

Il fegato dei Molluschi e le sue funzioni.

Ricerche prevalentemente microscopiche.

Per il

Dott. Paolo Enriques.

Con le tavole 16—18.

I. Introduzione.

Nonostante che sul fegato dei Molluschi, e specialmente nel gruppo dei Gasteropodi, siano state fatte numerose ricerche, è necessario riconoscere che ben poco è finora noto, sia relativamente alla struttura, sia relativamente alla funzione di quest' organo. Quanto alla struttura, la sua grande varietà, anche in specie relativamente affini, e d'altra parte, in tutte una grande complessità, sono causa delle nostre scarse conoscenze in proposito, conoscenze anche molto difficili ad acquistare per le difficoltà tecniche assai notevoli; quanto alla funzione, o meglio alle funzioni, di questo fegato, non è da meravigliarsi che le nostre notizie siano incomplete; giacchè in generale nel campo degli animali invertebrati gli studii della morfologia hanno avuto fino ad ora una notevole preponderanza, rispetto a quelli della fisiologia; a vero dire si sono, in questo caso speciale, dedicati a ricerche fisiologiche un certo numero di sperimentatori, ma non di rado furono fuorviati e tratti in inganno da un antico pregiudizio, consacrato anche nel nome dell' organo, e consistente nel supporre questo fegato dei Molluschi simile nei suoi rapporti funzionali coll' organismo al fegato degli animali superiori. Onde fatti veri vennero male interpretati, e fatti non veri furono ritenuti tali, venendo tratto in errore perfino CLAUDE BERNARD. Ma io non farò un riassunto storico completo dell' argomento, cosa poco utile sia per le notizie contraddittorie che verrebbero in campo, sia perchè nei lavori di BARFURTH e di FRENZEL di cui discorrerò fra breve, sono riportati i principali risultati dagli

altri ottenuti. E preferisco di cercare di discernere, tra questi, i veridici dai fallaci, per dare con un rapido cenno una sintesi del concetto del fegato dei Molluschi e in special modo dei Gasteropodi, quale si può derivare dai dati sparsi.

Quanto alla anatomia, topografia e struttura generale del fegato, di cui già si occuparono SCHLEMM (44), KARSTEN (45), MECKEL (46), LEYDIG (50) in modo soddisfacente, poi BARFURTH per i Gasteropodi (83), e molti altri, è ben noto come quest'organo ghiandolare sia il più importante per dimensioni, in tutti i Molluschi, tra le altre ghiandole, e come abbia rapporto coll' intestino in quella parte di esso che viene subito dopo lo stomaco, vale a dire colla sua prima porzione. Nei Cefalopodi tale rapporto consiste in due canalini, in generale assai lunghi e sottili, che dal fegato arrivano all' intestino. Nei Gasteropodi i rapporti sono molto più intimi, in quantochè le comunicazioni sono ampie e numerose, come verrà poi estesamente descritto.

Tutto l'organo è una ghiandola tubulare ramificata, e i fondi dei tubuli sono più o meno da considerarsi come veri acini, secondo gli animali.

I due sottili canalini dei Cefalopodi ne rappresentano i dotti escretori; nei Gasteropodi sono le larghe comunicazioni, i dotti ampi che si aprono nel canale digerente senza uscire dalla massa epatica, che hanno lo stesso significato. Negli Acefali si può dire che si hanno condizioni intermedie.

Embriologicamente già da LEYDIG è noto che il fegato deriva dalla parete intestinale.

Uno studio accurato delle varie specie di cellule epatiche si può dire che sia stato fatto la prima volta da BARFURTH e, più estesamente, da FRENZEL (83, 86, 93). Giacchè le ricerche precedenti (MECKEL, 46 ecc.) lasciano dubbii di interpretazione, nè si riesce bene a fare corrispondere le distinzioni degli autori a quelle che l'osservazione propria e diretta suggerisce. Sembra dunque, per le ricerche specialmente di FRENZEL, che siano tre le specie di cellule nel fegato dei Molluschi. Egli non crede di farne un numero maggiore e le ritiene in tutti i Molluschi tra loro rispettivamente omologhe, salvo la mancanza di una o anche di due di queste categorie di elementi, in una determinata specie o in un determinato gruppo.

Una analoga distinzione è fatta anche dal BARFURTH (83) ma per i soli Gasteropodi da lui studiati.

BIEDERMANN & MORITZ (99) seguono, con nomi diversi, la stessa divisione.

Dai risultati da loro ottenuti si può, nei Gasteropodi, dare una definizione molto netta di queste tre specie, definizione che vale assai più che non i loro semplici nomi:

- 1) Leberzellen (BARFURTH) = Körnerzellen (FRENZEL) = Resorptionszellen (BIEDERMANN & MORITZ) = Cellule contenenti un pigmento solubile in alcool e xilolo.
- 2) Fermentzellen (BARFURTH) = Keulenzellen (FRENZEL) = Cellule contenenti un pigmento insolubile tanto in alcool quanto in xilolo.
- 3) Kalkzellen (BARFURTH) = Cellule senza pigmento (salvo eccezioni), contenenti per lo più delle sferule refrangenti che possono riempire completamente il corpo cellulare.

Nei Cefalopodi mancano quelle della prima specie, e quelle della seconda non presentano nettamente il carattere di insolubilità (questo aggiungo io); negli Acefali, secondo FRENZEL, mancano le seconde; dimostrerò che siamo invece nello stesso caso che nei Cefalopodi. In ogni modo mancano in generale, negli Acefali, anche le Kalkzellen.

Passando alla parte fisiologica, qua le questioni sono assai più intricate. Due funzioni sono state dimostrate: la secrezione di fermenti digerenti e una funzione glicogenica da paragonarsi a quella del fegato degli animali superiori.

Quanto all' azione digestiva, FREDERICQ (82) ottenne delle digestioni artificiali di fibrina con succo intestinale (quando la reazione è neutra o alcalina; se acida, no) di *Arion*, KRUKENBERG ottenne la digestione delle sostanze proteiche anche in reazione acida (acidi organici); BARFURTH pure in reazione alcalina, neutra o acida, con estratti acquosi di fegato (*Arion*).

Le cellule secernenti sarebbero, per BARFURTH, le Fermentzellen, per FRENZEL anche le Leberzellen; opinione nella quale non convengono BIEDERMANN & MORITZ.

Il glicogeno è stato trovato per la prima volta, come negli altri animali, così anche in questi, da CLAUDE BERNARD (53). BARFURTH (85) lo ha studiato ampiamente, nella chiocciola, ritrovandolo istologicamente tanto nel connettivo che nelle cellule del fegato. Scompare col digiuno e ricompare dopo che l'animale (*Limax*, *Helix*) ha mangiato alimenti ricchi di idrati di carbonio.

La quantità di glicogeno che si trova nel fegato è in generale maggiore di quella che si trova in tutto il resto del corpo.

BARFURTH accenna alla possibilità che gli alimenti penetrino nel fegato dei Gasteropodi, il quale funzioni come organo assorbente. Ma non porta alcun argomento in proposito, per quanto la comparsa del glicogeno nelle Leberzellen dopo un pasto tenda a far sospettare questa cosa. La quale è ammessa da BIEDERMANN & MORITZ, dalle cui ricerche risulta che anche il grasso si trova in queste cellule dopo l'alimentazione (*Helix*).

Quella funzione che è stata più discussa è la produzione di bile (acidi e pigmenti biliari), la funzione escretoria. Qua è che probabilmente cadde in errore anche CLAUDE BERNARD, ritenendo che tale produzione esista nel fegato dei Molluschi; HOPPE-SEYLER, KRUKENBERG, BARFURTH non hanno trovato nè acidi nè pigmenti biliari. Però sostiene BARFURTH una funzione escretoria di corpi pigmentati (quelli scolorabili dall' alcool, delle Leberzellen) e ritiene che anche il pigmento delle gocce di secreto abbia un significato funzionale di escrezione, come i pigmenti biliari negli animali superiori. La prima asserzione è negata da FRENZEL, che ritiene anche le Leberzellen secernenti un fermento. Le due opinioni, come dimostrerò, sono ambedue ugualmente errate. Quanto alla seconda asserzione, è perfettamente gratuita, e nulla la dimostra.

CUÉNOT (99) ha fatto delle esperienze con sostanze coloranti iniettate nella cavità del corpo, le quali si raccoglierebbero nelle Leberzellen, funzionando esse, secondo la sua interpretazione, da organi di escrezione. Non è però questa una prova sufficiente che tali cellule siano escrettrici anche normalmente, e, del resto, anche nelle sue esperienze l'interpretazione dei risultati può essere discussa.

Ricerche spettroscopiche sui pigmenti epatici son state fatte, dopo quelle di KRUKENBERG, da MACMUNN e da DASTRE & FLORESCO (98); esse hanno dimostrato l'esistenza della clorofilla nel fegato. DASTRE descrive la clorofilla del fegato dei Molluschi come perfettamente eguale a quella delle piante. In quale stato si trovi la clorofilla nel fegato, in quali cellule, in che modo vi giunga e che cosa ne succeda, non risulta dalle ricerche dei precedenti autori. Anzi, essi stessi discutono se sia veramente clorofilla o no.

BORTAZZI, nel suo recente lavoro (01), contemporaneamente al quale furono condotte le presenti ricerche, ha studiato in modo particolare l'*Aplysia limacina*. Non ne riferisco qui tutti i risultati,

giacchè ne verrà spesso parlato nel testo. Egli ha ottenuto tanto col succo gastrico quanto coll' estratto epatico in vitro la digestione di idrati di carbonio e di corpi proteici, questa non dimostrata direttamente, ma per il fatto che la clorofilla dell' *Ulva lactuca* assoggettata all' azione di quei succhi, veniva precipitata in minuti granuli; ciò che, secondo la sua interpretazione, richiede la digestione delle sostanze proteiche con cui la clorofilla è normalmente combinata nel cloroplasto. Altro tra i principali suoi risultati è l'aver dimostrato che nel fegato si trova un acido derivato dal pentosano (idrato di carbonio dell' *Ulva*), da cui avrebbe origine per ossidazione operata dal metabolismo cellulare. Glicogeno non esiste nell' *Aplysia*.

Ma di ciò e del resto verrà in seguito discorso.

II. Concetto della ricerca e tecnica.

Vi è dunque contesa tra i precedenti ricercatori sulla funzione del fegato dei Gasteropodi. Se esso sia un organo solo secernente (ghiandola digestiva), come vuole il FRENZEL, o anche escretore (BARFURTH) non è dimostrato. Gli argomenti portati in campo sono insufficienti per decidere la questione. Che abbia quest' organo una funzione assorbente, come han fatto pensare i rapporti molto suggestivi coll' intestino e la supposta penetrazione degli alimenti nei canali epatici, non è stato ancora dimostrato, tranne che per il grasso (BIEDERMANN & MORITZ), e nemmeno con tutta certezza.

Come si vede dunque, è tutto sospeso fino ad ora, ed anche in quanto all' ipotesi di cellule secernenti un fermento esistenti nel fegato, nessun argomento ha fornito l'analisi microscopica in aggiunta a quella che le esperienze di digestione artificiale hanno dato. Di più, anche la semplice cognizione istologica di quest' organo non è che addirittura incompleta.

L'intraprendere delle ricerche sul fegato dei Gasteropodi non è dunque opra vana, se si possa aggredire con esse anche solo qualcuna delle tante questioni ancora pendenti. E a dir vero il risolvere questioni di questo genere, se alcune gocce o granuli abbiano il significato di secrezione, di escrezione o di assorbimento, è un problema che, a parte le difficoltà tecniche che si possano incontrare, dal punto di vista del ragionamento sperimentale si presenta come assai facile. Naturalmente la semplice osservazione del fegato (sia a fresco, sia con sezioni), senza preoccuparsi delle condizioni di nutrizione degli animali esaminati, non può dir nulla; se le gocce

o i granuli, che si trovano nelle cellule epatiche, i quali si presentano all'osservazione microscopica sotto aspetti così marcati, così caratteristici, come fossero fatti apposta per servire di guida al ricercatore, se queste gocce o granuli, come è probabile a priori, data la supposizione che rappresentino una qualunque delle funzioni sopracitate, cambiano o di numero o di qualità, di aspetto, di grandezza, per qualsiasi carattere insomma, in seguito alla funzione stessa che rappresentano, il determinare in modo preciso e sicuro in quale momento e in quali condizioni ciò avviene, ed in che modo, è mai possibile che non debba fornire argomenti sufficienti per decidere la questione? Se si tratti di gocce o grani di fermento secreto, queste forme potranno aumentare o diminuire col lungo digiuno, non possiamo prevederlo. Ma certamente non si dovranno trovare in condizioni normali eliminate colle feci, e probabilmente dovranno essere abbondanti quando l'animale si disponga spontaneamente a mangiare con voracità, molto scarse quando egli rifiuti il cibo o sia subito sazio. Se si tratti di gocce o grani rispecchianti in qualsiasi modo una funzione di assorbimento, dovranno trovarsi abbondanti dopo un lauto pasto, in epoca di avanzata digestione, diminuire più tardi col digiuno. E così via.

Partendo da questi concetti, mi son posto allo studio della funzione delle cellule epatiche dei Gasteropodi colla convinzione che dati per risolvere le questioni sospese dovevano saltar fuori subito dai dati della osservazione microscopica, appena fosse fatta una ricerca sistematica. La cosa essenziale era, per me, di riconoscere con precisione in quale momento della digestione e stato di nutrizione ciascun animale si trovava al momento dell'osservazione microscopica. Ciò che non è difficile, dopo un po' di pratica, esaminando attentamente le condizioni del canale digerente e del suo contenuto, ciò che è facilissimo quando gli animali siano da lungo in laboratorio ed assoggettati a condizioni note. Perciò, mentre da un lato gli animali freschissimi, presi appena dal mare, mi fornivano i dati di quello che in essi avviene nelle condizioni di vita normali, d'altro lato quelli assoggettati ad esperienze in laboratorio, se non rispecchiavano condizioni altrettanto normali, mi fornivano però sia degli importanti argomenti per gli aspetti anormali riscontrati, sia il mezzo per bene interpretare i dati dell'osservazione di animali freschi, in condizioni di nutrizione ignote, aiutandomi a indovinare, o meglio a capire quali queste condizioni ignote fossero. Le esperienze di laboratorio erano tutte tecnicamente semplicissime,

giacchè si trattava di dare da mangiare agli animali o di non darlo. Erano, d'altra parte, complicate, perchè ricereavo di ottenere la maggiore varietà che fosse possibile nelle condizioni di alimentazione e di nutrizione. Per esempio, di diversi animali venuti dal mare, uno ne osservavo subito, un altro dopo un giorno di digiuno, due, tre, più giorni. Alcuni facevo mangiare dopo un giorno di digiuno, o dopo due o tre, o dopo un digiuno lunghissimo, e li esaminavo subito dopo il pasto, o dopo qualche tempo o dopo molto tempo. E il pasto poteva essere lungo ed abbondante secondo la fame dell' animale, o breve e scarso, secondo la mia volontà. A volte, dopo il digiuno lasciavo che gli animali rimangiassero per più giorni a loro volontà, o due o tre volte ad una certa distanza, secondo la mia.

In questo modo ho potuto stabilire con sicurezza fatti che altrimenti mi sarebbero sfuggiti, come erano sfuggiti o erano stati fallacemente interpretati dai precedenti ricercatori, che troppo si erano contentati della osservazione pura e semplice, e, spesso, anche troppo limitata e ristretta.

Quanto alla classificazione delle cellule epatiche ho dovuto correggere il concetto schematico delle tre specie di cellule surricordate, le quali, secondo il concetto sinora avutone dai ricercatori avevano come ciascuna una qualità propria, un carattere di individualità conservato attraverso alle varie specie animali; in una parola, in ciascun animale si ricercava se vi fossero tutte e tre le specie o se qualcuna ne mancasse. Falso è questo procedimento e questo concetto, che trova il suo massimo sviluppo nei lavori del FRENZEL. Nella *Pleurobranchaea Meckelii* vi è una quantità di forme differenti, tra cui alcune potrebbero avvicinarsi a un tipo, altre a un altro tipo o a due insieme, della classica divisione; ed invece tutte le forme sono stadii di un solo tipo di cellule le quali in quell' animale assumono nei varii momenti del loro sviluppo aspetti e probabilmente funzioni differenti. Altrove il numero delle specie di cellule distinte tra loro è anche maggiore di tre (4 — *Aplysia*) probabilmente realmente distinte tra loro, o maggiore di quello che si credeva (3 nei Cefalopodi invece che 2 secondo il FRENZEL).

Ma è specialmente nello studio delle funzioni cellulari che il metodo da me seguito mi ha portato a nuove conclusioni, giacchè ho potuto dimostrare una nuova funzione nell' epitelio epatico, quella di assorbire (nell' *Aplysia*) grossi pezzi di cellule vegetali soltanto incominciati a digerire, trasformandoli poi per

digestione endocellulare. Ciò che da un lato spiega l'origine e dimostra senza dubbii la vera natura della clorofilla epatica, d'altro lato tronca la questione relativa ai »Körner« delle Körnerzellen (FRENZEL) su cui verteva discussione, senza che nessuno avesse portato veri argomenti dimostrativi della propria ipotesi.

Nello studio delle secrezioni, seguendo il processo di formazione dei secreti e le condizioni in cui si formano e si consumano, ho potuto dimostrare per via indiretta che esse veramente contengono i fermenti e le altre sostanze attive nella digestione. E da questi processi di formazione ho anche potuto fare deduzioni anatomo-comparative che molto mi hanno guidato nello studio specialmente della *Pleurobranchaea*, e mi han fatto correggere varie identificazioni del FRENZEL (che nelle ostriche diceva contenere il fegato soltanto Körnerzellen; si tratta invece delle sue Keulenzellen).

Lo stesso metodo, applicato con tecnica diversa allo studio della meccanica della digestione, specialmente nella *Aplysia*, su cui poche cose invero si sapevano, e tra queste le più di aspetto molto strano (erano infatti interpretazioni errate), mi ha condotto a risolvere, almeno nelle sue linee generali, il complicato problema del cammino degli alimenti e dei secreti tra l'intestino, la camera epatica (biliare degli autori) e il fegato, riconoscendo anche quale sia il meccanismo di formazione delle feci, tanto caratteristiche ed eleganti in quegli animali.

La tecnica da me adoperata è stata principalmente la tecnica microscopica.

Per lo studio della meccanica della digestione anche in massima parte l'osservazione macroscopica di animali aperti in condizioni di alimentazione note o riconoscibili.

Per le osservazioni spettroscopiche mi son servito di uno dei soliti spettroscopi a tre canocchiali, col prisma nel mezzo. Gli spettri che ho disegnato sono stati ottenuti segnando sulla carta delle divisioni proporzionali a quelle della scala graduata dello strumento, e ponendo le strie di assorbimento in quelle posizioni (sulla carta) che leggevo nella scala dello strumento. Per segnare la posizione delle linee di FRAUNHOFER, sostituivo alla luce artificiale che traversava la sostanza in esame, la luce del sole, senza cambiare la posizione della scala. Era così facile stabilire la corrispondenza delle strie, come del resto si suole sempre fare.

La tecnica microscopica per lo studio del fegato dei Molluschi (e i Gasteropodi sono in prima linea) è sotto ogni riguardo molto difficile e delicata. Ciò è ben noto a tutti quelli che si sono occupati dell'argomento, e più di una volta anche BARFURTH, il cui lavoro appare essere molto serio e accurato, rinunzia a risolvere alcune questioni, per mancanza di preparati sufficientemente buoni. Per quello che si riferisce alla tecnica delle sezioni, una prima causa di difficoltà grande, come dice anche il FRENZEL, è questa, che quasi tutto il fegato è solubile in acqua. Le sostanze proteiche sono scarsissime, e invece molto abbondanti idrati di carbonio o sostanze affini, solubili. Ed anche quelle sostanze proteiche precipitano difficilmente, tanto col sublimato saturo che col calore. Ne segue che, adoperando fissativi acquosi, anche a caldo, rimane del tessuto epatico solo una trama delicatissima, la cui buona conservazione è, naturalmente, difficilissima. Per evitare quest'inconveniente, ho fatto molte prove con alcool o fissativi alcoolici. Ed ecco che i caratteri proprii di quei composti idrocarbonati, tanto sovrabbondanti, lumeggiano anche qua gli inconvenienti che la tecnica istologica riscontra. Vi è tra essi quel composto pentosico studiato da BOTTAZZI nell'*Aplysia*, e che costituisce un'altissima percentuale del fegato, il quale, finchè è umido, ha consistenza pastosa; ma completamente disseccato è una sostanza molto fragile e dura. Un pezzetto di fegato di *Aplysia*, fissato in alcool (70—100 %), conserva interamente quella sostanza; ma siccome esso viene completamente disidratato, tutto il tessuto diviene fragilissimo e duro; tanto fragile e duro che, per quanto si voglia sacrificare il filo del rasoio, non si perviene affatto a ottenerne sezioni.

Provai, per consiglio del Prof. MAYER, alcool più diluiti, e il risultato dell'esperienza è il seguente: pezzetti di fegato approssimativamente uguali immersi in alcool a 40 %, 50 %, 60 % e poi condotti gradualmente all'alcool assoluto ecc. fino all'inclusione in paraffina, si tagliano tanto meglio quanto più il primo alcool è diluito. Ma nemmeno l'alcool a 40 % è assai diluito per estrarre tanto pentosano da togliere l'inconveniente della fragilità; mentre, d'altro lato, esso è già troppo diluito per fissar bene il tessuto. Dunque l'alcool puro, a qualunque concentrazione, va escluso. Queste esperienze feci in gran copia nella stagione estiva. Riprovando nella stagione fredda, ebbi qualche differenza. Vale a dire la fragilità e durezza dei pezzi fissati in alcool era minore; attribuisco questo a una minore quantità di quel composto idrocarbonato,

in relazione colla più scarsa alimentazione. Tuttavia i risultati erano sempre insoddisfacenti. Tali però che i preparati così ottenuti poterono servirmi per fare alcune reazioni microchimiche, per le quali la perfetta conservazione istologica non era necessaria. Il sublimato alcoolico, massime con un po' di acido nitrico (1 % — liquido di FRENZEL), rende assai meno fragile il tessuto, ma i risultati non son buoni. Anche FRENZEL si meraviglia di questa minor fragilità in questo caso.

La formalina (2—4 %), i liquidi osmici, cromatici, acetici e misti offrono tutti gli stessi inconvenienti del sublimato acquoso.

Ma se quella sostanza è fragile e dura, disseccata, quando è ancora un poco umida ha invece una consistenza che non sembra cattiva per la tagliabilità. Infatti, un pezzetto di fegato disseccato all' aria, ma non completamente, e poi circondato di un po' di paraffina, per metterlo comodamente al microtomo, si taglia benissimo, in fette anche molto sottili; ma non è certamente per questa via che si possono ottenere dei preparati istologici. Però, immergendo un pezzetto di fegato appena tolto in una piccola quantità di una soluzione di gomma e glicerina, o, meglio ancora, iniettando prima la stessa soluzione dentro ai canalini epatici (V. più sotto), in modo che essi non si retraggano, qualche cosa si può ottenere. Quando la gomma-glicerina era assai indurita, solevo toglierne il superfluo e includere il pezzetto di fegato in un poco di paraffina. Provai a porre pezzi di fegato in queste miscele, dopo averli fissati in sublimato acquoso, puro od acetico; ma allora si verificavano gli stessi inconvenienti che coll' inclusione in paraffina.

E veramente i preparati che si ottengono con fissativi acquosi senza speciali avvertenze, sono molto caratteristici. Giacchè tutte le cellule, quasi senza eccezione, vengono portate via e resta solo una sottile impalcatura connettiva, di aspetto irregolarmente poligonale. Tutt' al più si conservano le grosse masse di secreto. Fu solo dopo lunghi tentativi che riuscii a liberarmi da questa condizione così sfavorevole di cose. Feci esperienze tanto con sublimato saturo in acqua o in NaCl 0,5—1 % quanto con sublimato saturo in acido acetico 5 %, nelle quali prendevo diversi pezzetti di fegato, circa uguali, e li mettevo ciascuno in un tubetto, collo stesso fissativo. E poi toglievo uno ad uno i pezzi, dopo tempi diversi, dal fissativo, facendo per tutti gli stessi passaggi e per tempi uguali, fino all' inclusione. Pezzi fissati per mezz' ora e fino a qualche ora, rimanevano assai molli, tanto nel sublimato come nei successivi

passaggi, e il risultato finale era completamente negativo: quasi nemmeno una cellula epatica era conservata! Nè molto diversi erano i risultati per una permanenza di 1 o 2 giorni nel fissativo. Però già si avvertiva, toccando il pezzo al momento di toglierlo dal sublimato, che aveva acquistato una consistenza un poco maggiore. Dopo 3 o 4 giorni o anche di più, la consistenza era maggiore al tatto, e nei preparati le cellule finalmente rimanevano, ed anche in buone condizioni. Si deve dunque credere che il sublimato abbia su questo tessuto una lenta azione la quale lo salvi dal disfarsi completamente negli ulteriori passaggi. Quello poi che, con una sì lunga permanenza nel fissativo, riusciva conservato molto bene, era l'epitelio intestinale; esso si conserva assai bene anche con una più breve fissazione, ma con questa fissazione lunga, le ciglia vibratili e i loro prolungamenti nell'interno delle cellule fino ad attaccarsi alla sua base, sono chiarissimi, nonostante che queste cellule epiteliali siano molto strette e stivate tra di loro.

Questi risultati si riferiscono a prove fatte nella stagione estiva (temper. circa 30°). In autunno, quando già la stagione era assai fredda, la dissolvibilità di questi fegati era minore, la loro consistenza allo stato fresco alquanto maggiore. Nè questa fissazione lunga era necessaria, anzi mi dette qualche volta dei discreti risultati una fissazione e dei passaggi rapidissimi (naturalmente su pezzi molto piccoli). Tali differenti proprietà del fegato secondo la stagione non devono destare meraviglia, giacchè esso nell'estate è molto più molle che nella stagione fredda.

In tutto ciò mi son riferito specialmente alla *Aplysia*, nella quale il problema tecnico è più difficile. Nella *Pleurobranchaea Meckelii* non si ottengono mai dei preparati vuoti come nella *Aplysia*. Ma ottenere dei buoni preparati è sempre una cosa molto difficile. Ne ho ottenuti dei buoni dopo una fissazione di 5 o 6 giorni in sublimato saturo. Ma non sempre, anche colla stessa tecnica, gli stessi risultati si ripetevano.

Il fegato dei Cefalopodi (*Octopus*, *Sepia*) si fissa assai bene in liquidi osmio-cromo-acetici (durata 1—2 giorni) o anche in liquido del MÜLLER (lunga permanenza). Meglio però con sublimato, da qualche ora a un giorno. In complesso però è assai più facile che quello dei Gasteropodi.

Tra il sublimato puro e quello acetico non ho in generale riscontrato una notevole differenza nel modo di agire. Il primo però lo preferii senza eccezione nella *Aplysia*, dopo che mi accorsi che

gli acidi, anche deboli come l'acetico, distruggevano alcune gocce di secreto.

Dapprima non me ne ero accorto, giacchè anche col sublimato quelle gocce non le vedevo nei preparati: esse venivano distrutte dall' jodio che adoperavo per togliere il sublimato, sia dal pezzo, sia dalle fettine già attaccate sul porta-oggetti (jodio in soluzione alcoolica con un po' di KI). Per evitare questo inconveniente ricorsi al metodo di tenere lungamente immerse le sezioni in alcool, senza mai adoperare jodio. Il sublimato veniva quasi sempre portato via del tutto.

Come liquidi per togliere l'alcool dai pezzi, usai il toluolo o lo xilolo; raramente il benzolo o il cloroformio, ma non riscontrai differenza. Sempre facevo i passaggi gradualmente dall' alcool e toluolo in parti uguali e poi toluolo puro. Dal toluolo passavo in toluolo saturo di paraffina piuttosto molle, che poi riscaldavo lentamente, aggiungendovi anche un altro po' di paraffina; quindi trasportavo i pezzi in paraffina molle fusa, indi in paraffina dura, simile a quella in cui facevo l'inclusione. La permanenza nella paraffina cercavo sempre che fosse piuttosto breve, e raramente lasciai che superasse in complesso le 24 ore.

Facevo sezioni grosse anche 20 μ quando mi occorreivano lunghe serie senza scopo di fina istologia. La grossezza più comune era di 10—6 μ ; ne feci però anche delle più sottili, fino a 3 μ .

Attaccai le fettine al porta-oggetti con l'albumina glicerinata di MAYER quando volevo escludere l'acqua. Salvo questi rari casi, sempre all' acqua, facendo disseccare a 40—45°.

Le sezioni di pezzi inclusi in gomma-glicerina o gomma-sciroppo, se non dovevano passare, dopo attaccate, per liquidi acquosi, le attaccavo alitando sul vetrino, e poi passandovele sopra e leggermente premendole con un pennellino. Ma se dovevano passare per liquidi acquosi, questo metodo era insufficiente, perchè si distaccavano. E allora ricorsi alla gelatina. Ne facevo una soluzione acquosa a 50—60°. Per attaccare le sezioni, posavo il porta-oggetti sopra alla stufetta della paraffina, e quando era caldo vi versavo una goccia di gelatina, che spandeva con un cencio. Sopra posavo le sezioni, e lasciavo disseccare, preferibilmente tenendo sempre il vetrino sulla stufa, non però a diretto contatto col metallo. Dopo disseccato e raffreddato, siccome la gelatina non è solubile nell'acqua a freddo, facevo i passaggi che erano necessari senza che le sezioni si distaccassero.

La colorazione la ho sempre fatta sulle sezioni. L'emallume — colore che ho usato più di frequente — mi serviva in generale assai bene. Per lo più la colorazione avveniva meno rapidamente che per gli altri tessuti.

Per le cellule epatiche, doppie colorazioni, per esempio con eosina, non erano da preferirsi; piuttosto questo metodo andava bene per gli epitelii del canale digerente e per il connettivo. Come colori alcoolici, il paracarmino, o, più volentieri, il carmino boracico. La tionina mi dette dei buoni risultati per sezioni che col l'emallume si coloravano appena, sebbene la fissazione fosse stata fatta in sublimato e non troppo prolungata.

Chiusura in balsamo, salvo per le sezioni di pezzi inclusi in gomma; in questo caso chiudevo in gomma-sciroppo.

Per l'osservazione, ho adoprato un microscopio di KORISTKA con obb. semiapocromatico a immers. e oculari comp. 4 e 8 (rispettivamente 600 e 1200 diametri). Per disegnare, qualche volta una piccola camera microfotografica verticale (KORISTKA, modello RUFFINI), facendo cadere l'immagine su carta lucida appoggiata sopra un vetro non smerigliato; per lo più una camera lucida ABBE; i piccoli disegni a fresco in generale a occhio.

Passiamo alla tecnica dell' esame a fresco. Non minori difficoltà essa offre che la tecnica della fissazione. Giacchè, quando si prende un pezzetto di fegato e lo si dilacera o si preme tra i vetrini, e si osserva al microscopio, quello che si vede è un ammasso di granuli e sferette di tutte le forme, colori e dimensioni, ma tutti ugualmente indecifrabili. Ciò dipende da due ragioni. Prima, la straordinaria delicatezza di questo tessuto, per la quale esso si spappola subito, prima che si riesca a separare le cellule. Seconda, che le cellule stesse o le loro parti, quando sono distaccate, subito alterano la loro forma, divenendo sferiche. Ben sapeva questo fatto il FRENZEL, il quale nei suoi voluminosi lavori sul fegato dei Molluschi, in centinaia di figure a fresco che ha fatto, non ha rappresentata una sola cellula epatica nelle sue condizioni normali! E quando egli dice »im natürlichen Zustande«, bisogna intendere meno alterata di quelle che egli dice essere modificate. Io son riuscito a vedere le cellule nel loro stato naturale, come dimostrerò, usando di qualche accorgimento speciale, e soprattutto avendo una grandissima pazienza. Operavo come segue. In primo luogo, la dilacerazione cogli aghi dà, per questo tessuto, risultati completamente negativi. Per mezzo di essa, si rompono le cellule,

ma non si separano. Solevo tagliare un piccolo pezzetto di fegato con delle forbici molto taglienti, in modo da poter ottenere una fettina molto sottile, il più che fosse possibile. A questo scopo, facevo un taglio netto, rapido, quasi radendo sulla superficie del fegato: sulla superficie esterna naturale quando volevo esaminare le parti superficiali del tessuto, su una superficie di sezione, ottenuta con un taglio netto (con forbici o bisturi) per esaminare parti profonde. Il piccolo pezzetto così ottenuto rimaneva per lo più attaccato alle forbici; apertele, appoggiavo la punta a cui era rimasto attaccato, sul vetrino porta-oggetti, sopra al quale avevo versato qualche goccia di acqua di mare; con una punta trasportavo il pezzetto sopra al vetrino, facendolo scorrere dolcemente. Altre volte, lasciavo cadere il pezzetto, appena tagliato, nella vaschetta di acqua di mare in cui stava il fegato, scuotendo un poco le forbici, dopo averle aperte; e lo raccoglievo mediante una spatolina per trasportarlo sul vetrino. Qua giunto, lo dilaceravo un poco, ma non per isolare gli elementi, cosa con questo metodo impossibile: per ridurlo soltanto in pezzetti più piccoli. E la dilacerazione, meglio che con due punte, la facevo fissando il pezzetto per mezzo del taglio di un bisturi, premuto contro il vetrino; e dall' altra parte stiravo molto delicatamente con una punta. Osservando al microscopio un preparato in queste condizioni, senza posarvi su il copri-oggetti, è rarissimo poter distinguere un elemento cellulare bene isolato. Ora viene una operazione molto delicata. Difficilmente questo tessuto può sopportare il peso di un copri-oggetti di grandezza ordinaria (1,5—2 cm di lato) senza spappolarsi completamente. Adoperavo perciò dei vetrini molto leggeri, circolari, di 15 mm di diametro, e anche molto sottili di spessore (0,10 mm). Usavo anche il sistema della carta bibula od altro, messa tra i due vetrini per impedire una eccessiva pressione, ma non sempre era il metodo migliore. Bastava posare il vetrino leggermente, perchè il suo peso non fosse eccessivo. Osservavo subito al microscopio. Ricercavo a piccolo ingrandimento gli elementi che sembravano meglio isolati o vicini ad essere isolati. E, sempre guardando al microscopio, cominciavo a far fare dei piccoli movimenti al vetrino copri-oggetti, rotatorii o di traslazione secondo i casi, spingendolo con una punta o col dito. Seguitavo sempre a tener d'occhio quegli elementi che mi sembravano in migliori condizioni, ed in tal modo mi fermavo nell' operazione proprio nel momento più opportuno. A volte anche una piccola pressione era utile. Ma l'essenziale è che queste opera-

zioni siano fatte osservando quello che succede durante l'operazione stessa. Potevo, con movimenti opportuni, quando osservavo una cellula assorbente isolata, ma nascosta tra molti elementi, liberarla, conducendola in campo vuoto. Le cellule assorbenti è necessario osservarle isolate, perchè quando sono insieme anche con poche altre cellule, l'intensità della pigmentazione nasconde ogni cosa. Invece le cellule sferulose non sono isolabili intiere, perchè si rompono o divengon sferiche, ma si osservano molto bene mentre sono ancora attaccate al pezzetto di tessuto, in condizioni opportune. Le cercavo alla periferia del pezzetto, ed ero sempre sicuro di trovarvele, quando prendevo il pezzetto in modo opportuno. Molto spesso cellule e detriti vi erano misti in tal quantità da rendere impossibile l'osservazione; ma quando ve ne erano in scarsa quantità, coi soliti movimenti potevo riuscire ad allontanarli, senza alterare le cellule prese di mira. Esse, è vero, durante questi movimenti mutano forma, essendo mollissime, ma tali mutamenti di forma, se lievi, non le rompono. Del resto, siccome alla prima osservazione, appena messo il copri-oggetti, già intravedevo queste cellule, potevo accorgermi se alterazioni si producevano colla tecnica adoperata. Le cellule secernenti a grosse gocce qualche volta si distaccavano intiere dal tessuto, ma per lo più la massa di secreto ne usciva. Essendo però essa la parte per me più interessante, spesso mi contentavo di osservarla e disegnarla in tale condizione. Qualche volta potevo osservare la cellula intera ancora unita a molte altre, ma non coperta da corpi opachi. Le secernenti a piccole gocce non riuscii a vederle isolate a fresco; la loro estrema sottigliezza lo impedisce; quando sono unite al tessuto, non si possono vedere distintamente, perchè le altre cellule, tanto più grandi le nascondono. Ma queste cellule si possono osservare, per fortuna, con buon frutto, nei preparati in paraffina.

Qualche volta anzichè esaminare il tessuto freschissimo, dell'animale appena ucciso, ne misi dei piccoli pezzi nel succo ricavato dal contenuto gastrico, il quale succo per la sua acidità non putrefà, e per un giorno o anche più impediva la putrefazione anche di questi pezzetti. Osservando appunto dopo un giorno i pezzetti, le cellule mostrano meno tendenza a contrarsi e divenire sferiche; questa condizione è dunque assai favorevole all'osservazione; nè le cellule stesse mostrano di esser state alterate da questa permanenza nel succo gastrico. Anzi probabilmente sono tuttora ben vive, giacchè le cellule vibratili dell'epitelio intestinale mostrano ancora vivaci movimenti delle ciglia.

All' opposto degli elementi del fegato, è facilissima l'osservazione microscopica del contenuto del canale digerente, giacchè non vi sono nè elementi fragili nè che abbiano bisogno di essere isolati. Le feci basta schiacciarle e dilacerarle un poco.

La reazione dell' amido la ho fatta a fresco e su sezioni di pezzi in paraffina, col solito metodo (soluzione iodo-iodurata con tracce di H^2SO^4). A fresco facevo passare il liquido sotto il copri-oggetti, con un po' di carta bibula, o ne versavo una goccia su ciò che era da esaminare, prima di coprire.

Altre reazioni, di solubilità in acqua ecc., trattamento con ossalato di potassio ed altre sostanze, le ho fatte sulle sezioni di pezzi fissati direttamente in alcool assai forte.

III. *Aplysia depilans* e limacina.

1. Anatomia del canale digerente.

Nelle Aplisie, come è noto, dopo la faringe coi denti della radula che operano la prima masticazione, vi è un esofago assai lungo, che si allarga in una voluminosa ingluvie; segue a questa il primo stomaco trituratore con denti molto grossi e robusti, che, quando lo stomaco è vuoto e contratto, occupano tutto il lume dello stomaco, incastrandosi a vicenda. Il secondo stomaco trituratore è una porzione molto corta, con denti sottili ed acuminati. Proseguendo direttamente, si entra nell' intestino, che conduce senz' altro fino all' ano. Ma, subito dopo il secondo stomaco trituratore si incontra una apertura laterale nell' intestino e due lembi valvolari. Distinguo questa porzione dell' intestino, che si continua dalle due parti senza limiti netti, col nome di porzione valvolare dell' intestino o più brevemente intestino valvolare. La disposizione dei lembi valvolari è assai complicata. Si osservi la Fig. 2 (Tav. 16). Essa è tolta da un preparato in cui la prima porzione dell' intestino è stata aperta longitudinalmente con un taglio. I margini laterali della figura sono il prodotto di questo taglio, essendo stati aperti e stirati i lembi recisi. In basso ho segnato qualche dente del secondo stomaco trituratore.

Sollevando delicatamente i margini artificiali, dopo fatto il taglio, senza esercitare trazioni, le valvole restano addossate a quella apertura, che quasi completamente nascondono, e l'apertura stessa è assai più ristretta di quello che nella Fig. 2 sia rappresentato. Per vedere bene l'apertura, avevo un poco disteso la parete intesti-

nale, tirandola in direzione trasversale. I lembi valvolari sembrano così inseriti in un punto della parete intestinale assai più distante dall'orlo dell'apertura, di quello che non appaia quando non sia esercitata la trazione. Per queste varie ragioni, quando l'intestino valvolare, anzichè esser disteso, è contratto, i lembi valvolari chiudono completamente l'apertura. Va anche notato che nella figura essi sono visti un poco di scorcio, onde sembrano più stretti di quello che siano in realtà. Consideriamo ora l'aspetto dei lembi valvolari veduti senza che l'intestino valvolare sia stato aperto longitudinalmente, dalla parte dello stomaco. Le Figg. 3 e 4 mostrano la cosa, essendo però in questi casi un po' dilatata artificialmente la parete; quando ciò non è stato fatto, i lembi valvolari chiudono completamente l'apertura. Ora, come va che, esaminando i lembi nell'intestino aperto, sembrano inseriti longitudinalmente nella parete intestinale col loro margine non libero, e chiudono un'apertura laterale, mentre che, esaminate senza romper nulla, dalla parte dello stomaco, sembrano inseriti lungo una linea circolare, e chiudono il lume del canale principale? In realtà, se si considera il margine d'inserzione dei lembi, quando tutto è al posto e la parete piuttosto contratta, si vede che esso non è su di una linea retta. La porzione distale del margine è esattamente posta in una direzione longitudinale: mentre, venendo verso lo stomaco, la linea d'inserzione muta direzione e diviene trasversale. I lembi stessi hanno così una porzione longitudinale (distale) e una porzione trasversa (prossimale). Tirando la parete intestinale longitudinalmente aperta, la distinzione è meno evidente, perchè la parte prossimale assume anch'essa una direzione longitudinale. Anzi, la direzione del margine d'inserzione della porzione prossimale non è, in un certo senso, fissa. Si confrontino le figure 3 e 4. Nella Fig. 4 i punti prossimali dei lembi sono p e p' ; nella condizione di contrazione dell'intestino valvolare, questi due punti sono di poco più prossimali che i punti d e d' ; mentre quando l'intestino è disteso, acquistando tutta la valvola la direzione prevalentemente longitudinale, quelle due parti divengono tanto più prossimali delle altre due, quanta è la lunghezza di quei tratti dei lembi valvolari. Insomma nel caso di questa figura, i punti che si seguitano colla porzione distale, longitudinale dei lembi sono, rispettivamente, d e d' ; invece nell'altra figura i punti corrispondenti p e p' sono situati accanto, anzichè essere opposti. Vale a dire, quando dalla condizione di estensione si passa a quella di contrazione, le porzioni prossimali dei lembi possono ripiegarsi o in

un verso o nell' altro, senza legge fissa. Ma, se questo avviene nelle manovre di estensione artificiali, quando, esercitando delle trazioni colle mani, non sempre si esercitano nelle direzioni volute, o in modo regolare, non deve avvenire normalmente. Infatti, quando l'esperienza si faccia con molta cura, i lembi cadono sempre come nella Fig. 3.

Questi due lembi valvolari (valvola intestinale) constano dunque di due porzioni ciascuna, le quali si seguitano senza limite netto l'una nell' altra, e che sono destinate a scopi diversi: le porzioni prossimali, trasverse, chiudono la comunicazione tra lo stomaco e l'intestino (porzione gastrica della valvola intestinale, o, più brevemente, valvola gastrica); le porzioni distali, longitudinali chiudono un' apertura laterale dell' intestino valvolare che immette nel cieco e nel fegato, e si possono chiamare porzione epatico-cecale della valvola intestinale, o valvola epatica.

Ora passiamo al di là di quest' apertura laterale. Ci ritroviamo in una dilatazione o camera, in cui immettono molti canali. Uno, a sinistra nella Fig. 2, è l'intestino cieco, o cieco epatico; gli altri sono i canali escretori, ossia i primi tratti dei canali epatici. Questa dilatazione è nota col nome improprio di camera biliare. Siccome si continua più direttamente coi canali epatici, la chiamerò camera epatica. Nella Fig. 5, ove lo stomaco, l'intestino valvolare ed il cieco sono tutti aperti longitudinalmente (anzi lo stomaco con due tagli) non si vede più traccia della apertura laterale dell'intestino valvolare, o apertura cecale; ma della camera epatica se ne vede il fondo ampiamente messo in evidenza. Si vedono delle aperture quasi circolari verso destra (nella parte che corrisponde più strettamente alla camera epatica), che corrispondono al principio dei canali epatici; ve ne ha di grandi e di molto piccole. A sinistra, il cieco. La continuazione diretta dello stomaco coll' intestino, come è indicata dalla Fig. 2, non è qui affatto riconoscibile, a causa delle artificiali distensioni delle pareti, necessarie per scoprire le particolarità che ora vengo a descrivere. L'epitelio dei canali di passaggio, è, come dimostra l'osservazione microscopia, simile a quello della camera e del cieco, ricco di pliche longitudinali. Queste pliche, quando i canali sboccano nella camera, si continuano con pliche della camera stessa (piccole pliche cecali), le quali arrivano fino nel cieco. Non sempre una stessa plica percorre tutto questo cammino; anzi per lo più dopo un certo percorso esse cessano, ma, essendovene altre che incominciano in punti lateralmente

molto vicini, tutta la parete di fondo della camera e il cieco appaiono solcati da strie parallele regolari.

Le piccole pliche cecali producono ai loro due lati due solchi poco profondi e non sempre molto netti. Per maggiori particolari, v. la parte microscopica. Vi è poi una grande plica cecale, che traversa la camera solo di scancivo. Essa si vede in sezione nella Fig. 6. Arriva quasi fino alla punta del cieco e, cessando un poco prima di essa, fa sì che i solchi che delimita, comunichino tra loro, in corrispondenza della punta del cieco. Essi sono grandi e profondi. La plica si seguita, girando ed espandendosi, nell'intestino, con direzione obliqua, e diminuendo i solchi di profondità, fino a sparire col termine della plica stessa (Fig. 5, 2).

Quanto ai rapporti tra l'intestino, compreso il cieco, e il fegato, essi sono assai più stretti nella *A. depilans* che nella *limacina*. In ambedue l'intestino decorre in un solco scavato nella massa epatica, in cui è rinchiuso per più di metà della sua sezione; quando però è molto ripieno e disteso, restando il solco delle stesse dimensioni, una maggior parte dell'intestino se ne trova al di fuori. Nella *depilans* il canale intestinale è del tutto attaccato alla sostanza epatica, nè se ne può distaccare, senza romperlo. V. p. e. la Fig. 6, rappresentante una sezione del cieco in grandezza naturale. Invece nella *limacina* il canale è distaccato dalla sostanza epatica nel cui solco giace (Fig. 7) ed a cui è connesso non per mezzo di un tessuto continuo, ma con tanti cordoncini e filamenti connettivi, i quali, partendo dalla parete intestinale specialmente verso il margine di confine tra la porzione libera e la porzione incastrata, si dirigono e si attaccano ai margini del solco epatico, o anche in punti più lontani della sostanza del fegato. Però, siccome la parete intestinale è sottilissima, è difficile anche qui distaccarla dal fegato; operazione che non è tuttavia impossibile a farsi senza romperla, un poco tirando l'intestino, un poco tagliando colle forbici o con un bisturi i filamenti. Tanto che si possono ottenere dei lunghi tratti di intestino integri, e tali che, riempiti di acqua di mare, non versino.

La disposizione generale dell'intestino e del fegato merita anche di essere ricordata. Lo studio di questa disposizione riesce molto difficile nella *limacina*, per le connessioni secondarie che le varie parti del fegato, trovandosi a contatto, assumono, e per la varietà della forma; ma se si prende in considerazione una *depilans*, e specialmente un piccolo individuo, riesce relativamente facile.

Valgono di aiuto per la mia descrizione le figure schematiche 8, 9, 10, in grandezza naturale. Nella prima figura, nessuna parte del fegato o dell' intestino è stata tolta. L'intestino comincia in *a*, dove è quella apertura ovale che rappresenta la sezione del canale digerente, subito dopo il secondo stomaco trituratore. In realtà, se si apre un animale, conservando i normali rapporti di posizione, questo punto occupa, rispetto all' ano e all' ultima porzione dell' intestino, una posizione un poco ventrale, l'ano essendo sul dorso. Ma se immaginiamo, per comodità di descrizione, di trasportare l'ano in posizione esattamente distale rispetto al punto *a*, abbiamo che l'intestino descrive, andando in direzione distale, una prima spira sinistrorsa (fino al punto *n*) e poi, cambiando direzione e presentando un punto d'inflessione, una spira destrorsa non del tutto completa. In realtà ciò avviene non in una direzione esattamente prossimale-distale, nè in una direzione ventrale-dorsale, ma in una direzione mista. Immaginiamo il fegato come un nastro attaccato col margine esterno all' intestino, e precisamente al margine dell' intestino rivolto verso il centro di tutto il corpo costituito dall' intestino e dal fegato stesso, e coll' altro margine, interno, arrivante fino all' asse delle spire intestinali, ove le varie porzioni del nastro, sovrapposte, si fondono, ed avremo schematicamente, ma in modo assai esatto, una idea della disposizione del fegato. Più particolarmente, e prescindendo per il momento dal cieco e dalla porzione di fegato che l'accompagna, esaminiamo la Fig. 9. Qui è rappresentata col colore bigio la parte di fegato appartenente alla prima spira intestinale. Con un taglio orizzontale si passa dalla Fig. 9 alla 10, togliendo la massima parte della prima spira. Naturalmente il fegato ha anche una notevole altezza, che nelle figure schematiche non è resa evidente. Cosicchè l'ultima porzione della prima spira è assai più bassa della prima, e rimane, con un taglio appropriato, mentre la prima è portata via. La porzione bigia chiara nella Fig. 10 (parlo sempre della prima spira) indica che in questo punto la sostanza epatica è stata tagliata attraverso la sua massa. I canalini epatici sono nella prima spira ramificazioni, specialmente di quel grosso canale escretore che è indicato con la lettera *ep*, e di altri non rappresentati nella figura ed aventi su per giù la stessa direzione. E queste ramificazioni arrivano fino al punto *n*, ma non oltre. Ivi, ed è rappresentato nella Fig. 10, la massa epatica dell' ultimo strato del fegato è contigua ma non continua tra la prima e la seconda spira. Invece il fegato della seconda spira intestinale deriva

da canali escretori con direzione diversa fin dall' origine (*c' p*). Al solito la parte più chiara nella seconda spira, nell' ultima figura, rappresenta la parte ove il taglio ha traversato la sostanza epatica. Infine, c'è da considerare il cieco. Esso rimane all' altezza della prima porzione della prima spira, a lui circa parallela. La Fig. 8 indica come il fegato sia in connessione con esso. Il primo tratto è quasi completamente immerso nella sostanza epatica (nella *depilans*), poi se ne libera, assumendo i rapporti delle altre parti dell' intestino. Questo lobo cecale del fegato si attacca dunque, con un margine, dapprima al cieco (sua porzione terminale); ma poi prosegue, anche al di là del principio del cieco stesso, attaccandosi, come si vede in *g*, alla prima spira intestinale. Ad essa dunque sono due i nastri epatici che si attaccano: quello del lobo della prima spira e quello del lobo cecale. Ma se con molta delicatezza si distacca il lobo cecale dall' intestino della prima spira, ciò che è possibile fare, sotto compare il lobo della prima spira, che si attacca all' intestino, come indica la Fig. 8, molto vicino al suo margine interno, mentre il lobo cecale vi si attacca più vicino al margine esterno. Lo stesso accade in *l* per la porzione apicale del lobo cecale rispetto alla prima porzione della prima spira intestinale. Il lobo cecale poi si continua nel lobo della prima spira, laddove è indicata nella Fig. 9 quella porzione bigia chiara.

L'ultima porzione dell' intestino costeggia il margine della ghiandola ermafrodita, liberato completamente dal fegato, e dopo poco sbocca coll' ano all' esterno. Il fegato manda alla superficie di questa ghiandola qualche canalino che si ramifica con graziose arborizzazioni.

La descrizione del cieco e delle pliche cecali si trova già nello ZUCCARDI (90) e nel MAZZARELLI (93), ma ho creduto opportuno di ripeterla, avendo dovuto modificarla e completarla.

2. Istologia del canale digerente e del fegato sommariamente.

Il canale digerente, tranne nelle porzioni differenziate in modo particolare (stomachi trituratori) ha fondamentalmente dovunque la stessa struttura. Internamente, uno strato epiteliale semplice, cilindrico, più o meno alto, e, per tutta l'estensione del canale digerente, vibratile. Al di fuori, due strati muscolari, molto sviluppati nell' esofago, nell' ingluvie, nello stomaco; più oltre, in tutto

l'intestino vi sono solo scarse fibre che aumentano in vicinanza dell'ano. Nella prima porzione del canale i due strati, nettamente distinti, sono uno longitudinale (interno) e uno circolare (esterno). Specialmente nello strato interno è netta la divisione delle fibre muscolari in fascetti, circolarmente allineati; non sono insomma dei veri strati continui di fibre muscolari. Essi sono tenuti insieme da connettivo, e questo connettivo forma pure, in tutte le parti del canale digerente che sono esternamente libere, una sottile membrana limitante. È un connettivo sempre molto lasso, a larghe maglie. Dove l'intestino è attaccato al fegato, si continua direttamente col connettivo epatico interposto tra i canalini. Accenno appena a queste cose, ed espressamente senza figure, perchè, come dico anche altrove, non mi occupo in questo lavoro del tessuto connettivo. Esso per la sua importanza, specialmente in certe determinate regioni, ha bisogno di uno studio a parte.

L'epitelio del canale digerente offre a considerare diverse particolarità degne di nota. Ed in primo luogo la presenza di cellule mucipare rare nelle prime porzioni del canale e nell'intestino, ma abbondantissime nel cieco e nella camera epatica. Ivi se ne possono studiare gli stadii, che conducono da cellule a struttura granulosa (Fig. 123), probabilmente in origine non arrivanti nemmeno alla superficie libera dell'epitelio, a cellule a struttura più omogenea (Fig. 124) durante l'emissione del secreto (quelle gocce tra le ciglia); l'ultimo stadio è uno stadio degenerativo, con nucleo irregolare o senza, e, nei preparati, senza protoplasma tingibile dai colori (Fig. 125, 126). Questo fatto indica evidentemente che, svuotatesi le cellule del loro secreto, esse muoiono rimanendo per un certo tempo riempite di liquido che, nei preparati, naturalmente, sparisce.

Ma di più voglio fermarmi a considerare quelle granulazioni verdastre. Che cosa sono e quale significato funzionale hanno? Talora sono più grosse di quelle rappresentate nelle figure sopra citate, come mostra la Fig. 115. Questa è presa da un preparato a fresco, e quindi anche più attendibile per il colore, sebbene possa anche essere che esso vari nei diversi casi. È strano il fatto che i pigmenti di questi animali — e ne vedremo altri esempi nel fegato — hanno spesso un colore perfettamente simile alla clorofilla, senza essere clorofilla. Anzi, spesso un colore variabile dal verde al bruno, come la clorofilla normale e acida. Ma che qui non si tratta di clorofilla, è dimostrato dal fatto che tali granuli si conservano nei preparati passati per alcool e toluolo. Si

tratta di un pigmento non solubile nè in acqua, nè in alcool, nè in toluolo. Nè si può pensare che siano i granuli in qualche modo un prodotto di assorbimento dal contenuto del canale digerente, dandone un' interpretazione simile a quella data da CARAZZI (96) ai granuli trovati nelle cellule intestinali delle ostriche verdi di Marennes; e non si può, per varie ragioni. In primo luogo, non si osservano variazioni di questi granuli anche col lungo digiuno: in secondo luogo, essi si trovano anche nelle prime parti dell' esofago, ove non può esistere assorbimento. Nella primissima porzione di esso, vi è una pigmentazione nera, abbondante, poi subito dopo cominciano questi granuli verdi bruni.

E nemmeno si può supporre che questi granuli siano una secrezione cellulare destinata ad avere importanza nella digestione. Giacchè di queste granulazioni si trovano anche nell' epitelio intestinale; ora, certamente là non avvengono processi digestivi, giacchè vi si trovano sempre soltanto feci: nè pare probabile che questa supposta secrezione risalga indietro nel canale digerente, mentre i movimenti peristaltici e cigliari dell' intestino conducono tutto il suo contenuto sempre in direzione contraria, verso l'ano. Se dunque sono una secrezione cellulare destinata ad andare nel canale digerente, sono una secrezione di natura escretiva. Con questa avvertenza però, che devono questi granuli subito disciogliersi, appena usciti dalle cellule, perchè non se ne trovano nel contenuto del canale digerente, nè nelle feci.

Più probabile appare però che si tratti di una pigmentazione dello stesso significato — per lo più ignoto — che hanno i pigmenti cellulari in generale.

Le ciglia, infine, offrono dei caratteri di semplicità relativamente al loro movimento, giacchè si incurvano in una forma regolare ed omogenea. La progressione dei granuli impigliati tra le ciglia si deve al fatto che esse stanno complessivamente inclinate rispetto alle cellule epiteliali, nel senso del movimento. Specialmente nel cieco per causa delle pliche, i detriti rimangono impigliati in modo che non possono andare nella direzione contraria alla inclinazione delle ciglia. Esse, naturalmente, non si muovono tutte in un tempo, e quelle che si raddrizzano sgusciano sotto i grani, tenuti fermi da quelle inclinate.

Incominciando ora col dare una descrizione sommaria e generale della istologia del fegato, insieme colla disposizione dei suoi canalini, partiamo dalla camera epatica, ed immaginiamo di pene-

trare in uno dei canali escretori. L'epitelio di questi canalini è simile a quello dell' intestino e della camera; le cellule sono piuttosto basse, con ciglia non molto lunghe, e mancano le cellule mucose. Vi sono pliche dirette in senso longitudinale, e il senso della vibratilità è verso la camera epatica. I canali escretori arrivano con diametro notevolmente grande fino a punti assai distanti dalla camera; e specialmente due canali che vanno verso il lobo della seconda spira e la parte ultima del lobo della prima. La loro larghezza va però molto diminuendo cammin facendo, perchè si ramificano. Altri nascono già stretti dalla camera (Fig. 5). Questi canali escretori, ramificandosi ed assottigliandosi, danno luogo ai canalini epatici propriamente detti. Ciò avviene per un brusco e repentino cambiamento della struttura dell' epitelio. Anzi, dappertutto lungo il decorso dei canali escretori vi sono introflessioni più o meno profonde, in cui l'epitelio è veramente un epitelio epatico. Alcuni tratti di canale non sono nè del tutto canali epatici nè del tutto canali escretori; giacchè, quando questi si ramificano e assottigliano, per lo più non compare l'epitelio epatico a un tratto in tutto il canale. Si trovano, e sono numerosissimi, tubi che appaiono, in sezione trasversa come cerchi più o meno esatti, di cui un arco è costituito da epitelio vibratile come quello dei canali escretori, il resto da epitelio epatico. L'epitelio vibratile si continua a guisa di strisce longitudinali (per lo più una, ma anche più) per un bel tratto di canale epatico (Fig. 20). Nelle parti periferiche del fegato non si trovano canalini di questo tipo, perchè ivi sono gli estremi dei canali epatici, nettamente caratterizzati, ma nell' interno della massa epatica, ve ne sono dappertutto. Questa disposizione così caratteristica verrà interpretata a proposito della meccanica della digestione. Chiamo questi tratti canali di passaggio.

L'epitelio epatico si compone di varie specie di cellule e non è in tutti i punti uguale. Le specie di cellule sono, senza tema di fare suddivisioni eccessive, quattro:

1) Leberzellen (BARFURTH) o Körnerzellen (FRENZEL) o Resorptionszellen (BIEDERMANN & MORITZ), a cui dò il nome di cellule assorbenti clorofilliche o cellule clorofilliche semplicemente. Non conservo il nome di BARFURTH, perchè cellule epatiche sono anche le altre, nè queste sono più caratteristiche, giacchè in molti Molluschi, come è noto dalle ricerche del FRENZEL, mancano. Nè quello di FRENZEL, perchè due ragioni vi si oppongono: che esso lo ha dato anche ad altre cellule (nella *Pleuro-*

branchaea Meckelii) che con queste non hanno nulla a che fare, e che cellule della *Pleurobranchaea* che sono probabilmente equivalenti funzionalmente, non possono avere tal nome, non avendo Körner. Di più il nome che ho scelto indica la loro funzione, quale verrà in seguito dimostrata.

2) Fermentzellen (BARFURTH) o Keulenzellen (FRENZEL) che chiamo cellule secernenti a grandi gocce. Il nome dato loro da FRENZEL non corrisponde al vero, perchè la forma a clava non è punto costante. Seguo invece il nome di BARFURTH, ma aggiungo »a grandi gocce«, per distinguere queste cellule dalle seguenti.

3) Cellule secernenti a piccole gocce. Queste cellule ancora non sono state descritte. La ragione è questa: a fresco, per la loro sottigliezza, e per esser miste colle clorofilliche molto più grandi, e per non potersi isolare a causa della loro rompibilità, non sono visibili. Nei preparati, occorrono accorgimenti speciali perchè siano conservate. I fissativi acidi sciolgono le gocce, e allora tutta la cellula, tenuissima, si perde tra le altre. E quando si adopera il sublimato, colla tecnica ordinaria, pure vengono portate via, giacchè si sciolgono coll' jodio, che serve per togliere il sublimato.

4) Kalkzellen (BARFURTH, FRENZEL), che chiamo cellule sferulose¹. Sono quelle la cui funzione è più difficile a studiarsi. Forse anch' esse assorbenti, ma probabilmente addette al metabolismo degli idrati di carbonio. Non adottato il nome di Kalkzellen, perchè se pure una funzione calcare è loro da attribuirsi nelle chiocciole (BARFURTH, BIEDERMANN & MORITZ), ciò non è certamente nelle Aplisie, o, se sì, come cosa certamente secondaria. Il nome che io dò loro non pregiudica la questione fisiologica non del tutto sicura. E il loro aspetto è caratteristico, sì nelle Aplisie come negli altri Gasteropodi che ho osservato.

La distribuzione di queste cellule è la seguente: i canalini che seguono quelli di passaggio (non le introflessioni laterali), per lo più continuano con direzione più o meno retta, per un certo tratto, dando ramificazioni laterali (Fig. 21). E sono costituiti in massima prevalenza da cellule clorofilliche, miste, anzi quasi alternate esattamente una ad una colle secernenti a piccole gocce. Vi

¹ Come si dice granuloso di cosa composta di granuli, così per queste cellule, che sono composte di sferule, formo la parola sferulose, non essendovene altre nella lingua.

si trova qualcuna delle altre secernenti, ma rare; ed ancor più difficile è trovarvi unite delle cellule sferulose. Invece i fondi dei canalini, insieme colle porzioni esterne, contengono pochissime cellule clorofilliche, ben poche secernenti a piccole gocce, e in massima prevalenza cellule sferulose e secernenti a grandi gocce. Anche qui queste due specie di cellule sono tra loro unite, ma con più irregolarità. Non si trovano quasi mai due cellule secernenti a diretto contatto tra di loro. Questa disposizione generale è visibile tanto a fresco quanto nei preparati fissati e sezionati. Si vedano le Fig. 22—27, che verranno illustrate ampiamente in seguito.

I canalini non sono molto ramificati, nè contorti. Eleganti aspetti si trovano spesso sotto la parete intestinale, ove molti canali paralleli secondarii partono lateralmente da un canale primario (Fig. 21). Chiamo canali primarii o del 1° tipo quelli formati di cellule clorofilliche e secernenti a piccole gocce, secondarii o del 2° tipo gli altri. I canali primarii si dividono qualche volta in due uguali, ma non è caso molto frequente; per lo più le ramificazioni sono laterali e costituite da canali secondarii. Una ramificazione o introflessione di un canale secondario non può essere mai un canale primario.

Come è noto, non esiste nei Gasteropodi una circolazione vasale completa. Qua nel fegato, i canalini sono immersi direttamente in una cavità vascolare. In verità, una sottile lamella connettivale esiste, cosicchè, per passare dall' interno dei canalini epatici al sangue, dopo aver attraversato l'epitelio epatico, bisogna traversare anche quella lamella. Grandi spazii non rimangono in generale tra i canalini; però vi son dei luoghi in cui il connettivo interstiziale è più sviluppato ed assume caratteri del tutto particolari.

Ma del tessuto connettivo io non voglio discorrere adesso; la varietà di forme che vi si riscontrano ed alcune speciali strutture accennano ad una grande importanza che esso deve avere. Non ho però ancora raccolto intorno ad esso sufficienti dati per discuterne a fondo, nè avrebbe alcuna utilità una descrizione puramente superficiale.

Passiamo alla descrizione del contenuto del canale digerente e della sua meccanica, per poi riprendere lo studio delle cellule epatiche, particolareggiatamente e singolarmente.

3. Meccanica della digestione.

L'alimentazione delle Aplisie è, come è noto, esclusivamente da erbivoro; e l'erba che esse mangiano è l'*Ulva lactuca*, alga abbondantissima sulle nostre coste, od anche, eccezionalmente, qualche altra specie, p. e. qualche Floridea; ma ciò accade ben di rado; nelle mie esperienze le ho sempre alimentate coll' *Ulva*. Alghe unicellulari, diatomee, si trovano talora scarsissime, talora numerosissime nel contenuto del canale digerente; anzi a volte in tanta straordinaria abbondanza, che le feci sono costituite quasi esclusivamente di esse e dei loro gusci, tanto che, premendole con un corpo duro, seriechiolano. Qualche volta è anche possibile di trovare nello stomaco qualche piccolo animale, specialmente piccoli Gasteropodi, come ha già notato il MAZZARELLI; se vengano digeriti, non so, nè ho fatto ricerche speciali in proposito; certo è però che le Aplisie rifiutano l'alimento carneo; e quei piccoli animali si possono trovare nel loro canale digerente solo per fatto accidentale, venendovi introdotti coll' *Ulva* a cui eventualmente fossero attaccati.

Il pasto delle Aplisie può durare anche solo pochi minuti, ma in generale è, al contrario, molto lungo e abbondante. Ho osservato Aplisie digiune da qualche giorno seguitare a mangiare per diverse ore di seguito. Dipende ciò dalla lentezza della masticazione. L'animale si attacca colla bocca a una foglia di *Ulva* e a poco a poco la introduce nella faringe, mentre che i denti della radula la riducono in piccoli pezzi. In tale stato una grande quantità di erba si raccoglie nell' ingluvie. Quale sia stata l'azione delle piccole ghiandole salivari durante la permanenza, che dev' essere assai breve, dell' erba nella faringe, non saprei dire; ma è supponibile che si tratti di una azione puramente meccanica, o quasi, come negli animali superiori. Bisognerebbe altrimenti ammettere una rapidità di azione digestiva quale non esiste affatto per i secreti del fegato, ben altrimenti abbondanti. E, d'altra parte, l'erba contenuta nell' ingluvie non è alterata visibilmente in nessun modo — salvo lo spezzettamento — negli animali sacrificati subito dopo il pasto. Un' azione chimica del secreto delle ghiandole salivari per la quale esso aiuta lo spezzettamento operato dai denti della radula, come un' azione digestiva operata da questo secreto, giunto insieme col cibo nell' ingluvie, non hanno dalle mie osservazioni e ricerche nessun argomento nè in prò nè in contro.

Quando un animale si esamina subito dopo il pasto, l'ingluvie

non è grandemente distesa. I pezzi di *Ulva*, grandi all' incirca 1—4 cm.q. (questa misura è affatto approssimata) sono molto pressati fra di loro, ed è scarsissimo il contenuto liquido. — Questo stato di cose può durare assai, anche negli animali alimentati dopo un lungo digiuno, condizione nella quale, come vedremo, il fegato è ricchissimo di gocce di secreto. Perché tutto il contenuto dell'ingluvie sia portato via o disciolto, occorrono parecchi giorni. Normalmente però le Aplisie mangiano senza che ancora sia esaurita l'antica provvigione di cibo; e il nuovo pasto accelera l'espulsione dei residui più o meno digeriti dell' antico (e che, come vedremo, non si possono considerare come resti privi di potere nutritivo), specialmente di quelli che si trovano nell' intestino.

Quando nell' ingluvie l'*Ulva* si trova in pezzi ancora grossi e poco modificati, nelle parti inferiori del canale digerente essa non è ancora arrivata, tranne che nello stomaco trituratore. Questo già a priori si dovrebbe ritenere che abbia un' importante azione nello spezzettamento ulteriore delle foglie dell' alga; l'osservazione mostra che in realtà i pezzi grossi si trovano spesso (tutte le volte che un animale viene esaminato durante i primi stadii della digestione) tra i suoi denti, in evidente attività masticatoria. Dopo questa masticazione, il cibo prosegue subito in parte verso l'intestino, giacchè dopo breve tempo da un pasto abbondante vengono espulse delle feci in cui sono riconoscibili pezzi di *Ulva* più o meno grandi e poco modificati; ma gran parte deve ritornare nell' ingluvie, ove i processi digestivi seguitano per giorni, e in cui si può trovare non di rado insieme a pezzi di erba tali quali vengono spezzati dalla masticazione faringea, molti detriti più piccoli e più digeriti, la cui maggiore suddivisione deve bene attribuirsi alla masticazione gastrica, giacchè altrimenti non si comprenderebbe come fossero rimasti solo pochi pezzi più grandi e più intatti. I succhi digerenti devono agire ugualmente su tutto il contenuto dell' ingluvie; ed invece è molto facilmente pensabile che alcuni pezzi d'erba non vengano subito masticati dallo stomaco trituratore; anzi questo avviene sempre, poichè l'erba passa gradualmente, a poco a poco in esso, che ben poca ne contiene, in confronto coll' ampia capacità dell'ingluvie. Per queste osservazioni mi riferisco non ad animali freschi, venuti dal mare, nei quali l'esistenza contemporanea di pezzi di *Ulva* grandi e poco modificati e di altri detriti molto più piccoli, consumati ed alterati, potrebbe derivare dal fatto di aver rimangiato durante una digestione già avanzata. Mi riferisco ad

animali da lungo a digiuno, esaminati dopo un certo tempo da un solo pasto.

Per ciò che riguarda l'ingluvie, ho solo da aggiungere che, quando la digestione procede innanzi, man mano che l'erba si discioglie, il liquido dell'ingluvie aumenta; e non aumenta per solo fatto della dissoluzione di sostanze dell'erba, ma anche per l'arrivo di un nuovo liquido. Infatti, subito dopo un pasto, per quanto abbondante, non si trova mai l'ingluvie così enormemente distesa come in periodi più avanzati della digestione. Che arriva secreto dal fegato, dimostreremo a suo tempo.

La masticazione dell'*Uva* mediante i denti dei due stomaci trituratori può avvenire completamente, senza che troppa erba sfugga verso l'intestino non masticata, evidentemente in virtù delle valvole. Però, il funzionamento di esse è tutt'altro che perfetto, specialmente dopo un pasto abbondante, ed ancor più nei primi momenti dopo di esso. Infatti, in tali condizioni nell'intestino si trovano pezzi di alga ancora grossi, assai numerosi; e se ne trova anche nei canali epatici, per quanto la larghezza loro e delle loro aperture nella camera epatica lo permette. Ma questo non toglie che il loro effetto, escluse quelle speciali condizioni, sia molto importante ed efficace. La loro disposizione potrebbe essere suggestiva per una complicata interpretazione. Si tenga conto del fatto che esse chiudono la comunicazione gastro-intestinale prima del punto in cui v'è l'apertura della camera epatica. Perchè il contenuto gastrico non passi nè nell'intestino, nè nella camera, basta la porzione trasversa della valvola. Essa chiude lo stomaco subito alla sua fine, prima che venga la suddetta apertura. L'importanza della porzione cecale si dovrebbe dunque palesare in un tempo successivo, quando il cibo che sta passando al di là dello stomaco si trova di fronte a due possibili strade: quella dell'intestino e quella della camera cecale. Invece in questo caso non è possibile che essa impedisca il passaggio del cibo nella camera; perchè in tali condizioni la porzione d'intestino subito seguente allo stomaco si trova in stato di grande ripienezza e quindi di grande distensione; condizione questa che riduce nullo l'effetto delle valvole. Dunque, quando il cibo passa al di là dello stomaco, apertesi le valvole, delle due vie aperte, nessuna ha una esclusiva preferenza: parte prende la via dell'intestino, parte quella della camera.

Del resto, in qualunque condizione, non si può supporre il funzionamento di una porzione delle valvole, senza l'altra; quando

quella piccola porzione di canale digerente a cui sono attaccate è contratta, tutte e due le porzioni chiudono le corrispondenti aperture; quando è dilatata, contemporaneamente tutte e due le aperture sono aperte. Nè la valvola cecale ha occasione di dover agire per impedire il passaggio del contenuto intestinale nella camera cecale, in uno stadio avanzato della digestione. Tale passaggio non avviene, giacchè non si trovano mai nella camera feci quali sono quelle che si trovano nell' intestino, anche nelle porzioni superiori. Ma non avviene, per la più semplice ragione, che manca la causa che produca tale passaggio: le contrazioni peristaltiche dell' intestino sempre avvengono nella direzione dallo stomaco verso l'ano. Ciò si può osservare con massima facilità, giacchè la peristalsi intestinale spontanea è frequentissima quando si apre un animale in buone condizioni di salute. Nelle contrazioni artificialmente provocate colla stimolazione elettrica dei nervi, si verifica sempre la stessa cosa. Dunque il contenuto intestinale, quando è spinto a muoversi, è spinto verso l'ano, e non mai in direzione retrograda. Al contrario, le valvole cecali hanno probabilmente una notevolissima importanza per impedire il passaggio dai canali epatici all' intestino, in speciali momenti. Quando il cibo passa dallo stomaco nella camera cecale, esso prende la via dei canali epatici, non quella del cieco. Il cieco è in tali condizioni contratto. Anzi, veramente il cieco non è mai, in nessun momento espanso come le altre porzioni dell' intestino, e non ha mai un contenuto molto abbondante. Può penetrarvi poca quantità di cibo solamente. Nei canali epatici invece il cibo penetra in grande abbondanza. Questo è dimostrabile con varie osservazioni. In primo luogo, aperto l'animale senz' altro, se esso aveva molto mangiato avanti (non però nel momento immediatamente precedente, nel qual caso l'erba è sempre tutta nell' ingluvie), il fegato tutto appare molto rigonfiato, ciò che è manifesto non per le sue dimensioni, le quali avrebbero un valore solo se si potesse fare il confronto sullo stesso animale in condizioni diverse, ma per il fatto che esso rimane pressato fortemente dentro a quella membrana connettivale in cui è racchiuso. E se l'animale, per combinazione, aveva mangiato delle alghe rosse (ciò è riconoscibile negli animali venuti dal mare coll' esame microscopico del contenuto dell' ingluvie), tutto il fegato ha un colore rossastro. Di più, sempre l'esame microscopico a fresco rende evidente, nei pezzetti di fegato dilacerati e disfatti, la presenza di numerosi resti delle alghe mangiate, sia parti incolori, sia grani bruni liberi;

ed anche, quando si trovano anche nell' ingluvie, numerose diatomee. Le forme di tutti questi corpi sono le stesse che descriverò per il contenuto dell' ingluvie. L'esame dei preparati fissati e sezionati offre però nel modo più evidente la dimostrazione del fatto suddetto. I canali epatici, specialmente i più grandi, mostrano il loro lume ricco di quelle forme. Il cibo è spinto nei canali epatici evidentemente dalle contrazioni del canale digerente. La vibrazione dei loro epiteli vibratili agisce in senso inverso.

Ma consideriamo ora ciò che avviene in un tempo posteriore, quando, dopo esser stati riempiti, i canali epatici si vuotano. Perché si vuotano e dove va il loro contenuto? Fibre muscolari proprie del fegato probabilmente esistono, come già sono state dimostrate in altri Molluschi (BARFURTH ecc.) ed agiscono in questo senso. Nei più grossi canali epatici, i canali di passaggio e i canali escretori, la vibrazione dell' epitelio cigliato spinge i granuli contenuti nei canali, verso la camera epatica. Il contenuto, spinto da questi meccanismi, incontra due vie possibili: quella dell' intestino e quella del cieco. Ora entra in ginoco il funzionamento della valvola cecale. Anzi, il suo funzionamento è elegantissimo. È facilissimo riconoscere che la via dell' intestino non è in generale quella prescelta. Infatti, nell' intestino i residui alimentari non si trovano più nello stato di detriti incomposti, ma costituiscono degli speciali cordoncini aggomitolati, che or ora descriverò. Tali cordoneini formandosi, come dimostrerò tra breve, nel cieco, ne segue che il passaggio diretto dalla camera epatica all' intestino non ha luogo. Esso avviene soltanto poco dopo un pasto straordinariamente abbondante, condizione nella quale dei detriti informi passano anche nell' intestino. Va notato però che essi possono provenire anche direttamente dallo stomaco.

Eccoci ora alla questione del cieco. Descrivendo quest' organo, ho insistito sull' esistenza della grossa plica cecale (Fig. 5), la quale si continua con un' espansione nell' intestino (Fig. 2). In tutta la camera epatica e nel cieco si trovano detriti alimentari incomposti e molto muco. Sotto la grande plica, nei due solchi che essa limita, si trova in generale un cordoncino regolare ed elegantissimo, cilindrico, piuttosto compatto, il quale mostra però al microscopio di essere costituito degli stessi detriti. È a questo cordoncino che ho riservato più propriamente il nome di feci. L' epitelio delle piccole pliche cecali, continuando la direzione del movimento vibratile dei canali escretori, conduce i detriti verso la grande plica, e specialmente

verso la punta del cieco. Durante questo trasporto, il muco che vien secreto abbondantemente dalle cellule mucipare (v. istologia del cieco) si mescola ai detriti alimentari.

E adesso una breve parentesi. Prendiamo un po' di contenuto dell' ingluvie, oppure un poco di tessuto epatico premuto e completamente disfatto, sì che, osservato al microscopio, si mostrerebbe come un ammasso di granuli e di minute strutture indecifrabili. Su questo ammasso, posto su un porta-oggetti, posiamo una goccia di muco cecale, e copriamo coll' altro vetrino. Al microscopio vedremo ancora l'ammasso indecifrabile di granuli, gocce ecc., su per giù come prima, tranne che peggio, per la rifrangenza del muco. Ora, senza premer troppo, posiamo un dito sul copri-oggetti e facciamo scorrere questo sul porta-oggetti, prima in un verso, e poi nell' altro opposto. Dopo questa manovra, si vedono al microscopio tutti quei granuli per la massima parte riuniti in molti cilindretti, tutti diretti perpendicolarmente alla direzione del movimento che è stato fatto. Questi cilindretti presentano anche una certa stabilità, vale a dire anche con movimenti incomposti del copri-oggetti offrono resistenza assai notevole a rompersi, come fossero qualcosa di realmente unito, cellule allungate, per esempio. Questo muco ha dunque una considerevole potenza agglutinante, è molto atto a impastare detriti in modo da formare un corpo apparentemente unico. Chiudendo la parentesi, ci troviamo in realtà in questo caso nel vero, nell' interno del cieco. I detriti alimentari provenienti dai canali epatici sono spinti dalle ciglia vibratili tra mezzo al muco, subendo in questo modo un principio di arrotolamento, un arrotolamento tra le piccole pliche cecali, che comincia a produrre cilindretti e piccoli ammassi uniti, saldando insieme i detriti. In questo stato essi arrivano sotto alla grande plica. Qua si compie il resto. I piccoli cumuli vengono riuniti in un tutto, e si forma tutto un lungo cilindro, lungo quanto la plica, e del diametro di 1—2 mm. L'intimo meccanismo di questo compimento dell' opera è un po' difficile a comprendersi; vi devono contribuire le ciglia vibratili e le fibre muscolari delle pareti cecali. Fatto sta che sotto la plica cecale si trova quasi sempre un cilindro, ben unito e liscio, regolare, che evidentemente non deriva dalle feci che si trovano nell' intestino! Nè per quanto possa apparire elegante e di difficile costruzione questo cilindro, deve richiedere un gran lavoro la riunione dei detriti tutti commisti col muco e già agglutinati tra le piccole pliche.

Per decidere che cosa succeda di questo cordoncino situato sotto

la grande plica cecale, esaminiamo prima in quale stato si trovino le feci nell' intestino e quando vengono espulse. Esse non sono più un cordoncino sottile. Appaiono come cilindretti assai compatti, che, allargandoli un po', si riconoscono esser costituiti di uno o più tratti di quel cordoncino, aggomitolato con una certa irregolarità. Questi cilindretti hanno per diametro la stessa larghezza dell' intestino un po' espanso, per cui passano. Circa 1 cm. o poco più. La lunghezza è varia, ma si tratta sempre di pochi centimetri. Nel cieco non si trovano mai cilindretti formati, nell' intestino non si trovano cordoncini non aggomitolati. Vuol dire che l'aggomitolamento avviene nel passaggio dal cieco all' intestino. E infatti la struttura anatomica suggerisce il modo con cui ciò avviene. La grande plica, quando passa nell' intestino espandendosi, perde pure gradualmente il carattere di plica, vale a dire il suo bordo che dapprima era molto distaccato dall' epitelio adiacente, in modo da potere nascondere completamente il cordoncino fecale, diviene meno marcato, sì che il solco sottostante diminuisce di profondità fino a sparire; ma un solco rimane, anche al di là delle valvole cecali. Questo fatto è notevole, perchè indica la possibilità che il cordoncino possa uscire dal cieco anche quando le valvole sono addossate sull' apertura della camera cecale. Le valvole premono sopra la plica, ma sotto al suo bordo il cordoncino può scivolare e, scivolando, è guidato verso l'intestino. In questo modo le contrazioni delle fibre muscolari del cieco cacciano il cordoncino dal luogo ove si è formato. Ed ora si osservi bene la Fig. 2. Si immagini che le valvole, anzichè essere sollevate e un po' allontanate, per distensione della parete intestinale, siano addossate all' apertura della camera cecale. Il cordoncino, scorrendo tra la plica e la valvola, è spinto verso l'intestino in direzione obliqua rispetto all' asse dell'intestino medesimo; cosicchè, nello stesso tempo che gradualmente si libera dalla plica, la quale va sparendo, deve necessariamente, anzichè dirigersi direttamente secondo la lunghezza dell' intestino, cominciare un moto a spira, strisciando sulla parete intestinale obliquamente. Per tale meccanismo riesce chiarissimo l'aggomitolarsi del cordoncino in modo da dare origine a quella forma nella quale esso si trova nell' intestino e da esso viene espulso. La peristalsi intestinale conduce le feci da questo punto all' ano, insieme coi movimenti cigliari.

Riepilogando con uno sguardo sintetico tutti questi meccanismi, dobbiamo distinguere quello che avviene poco dopo un pasto

abbondante da ciò che si verifica in periodi più avanzati della digestione. Dapprima, essendo la porzione valvolare dell' intestino enormemente dilatata e le valvole aperte, il cibo già masticato quasi completamente dallo stomaco trituratore è spinto in parte verso l'intestino, in parte verso la camera cecale e nei canali epatici; da questi ciò che ritorna, in virtù delle fibre muscolari proprie del fegato e degli epiteli vibratili, non può passar subito nell' intestino, sia per la sua ripienezza, sia perchè tra i solchi delle piccole pliche cecali esso è condotto verso la grande plica. Per causa del muco i detriti si arrotolano e formano il cordoncino fecale sotto la grande plica; le contrazioni della parete cecale lo cacciano, lungo l'espansione della plica, nell' intestino; e si capisce come quel solco che gli serve di guida e fa sì che esso sia spinto nell' intestino prevalentemente nella direzione in cui le contrazioni peristaltiche di questo conducono i materiali che vi si trovano, possa far sì, guidandolo in tal modo, che la presenza di abbondanti materiali nell' intestino non sia di ostacolo al suo passaggio. A poco per volta i materiali della porzione valvolare dell' intestino diminuiscono, e le valvole si accostano alla apertura della camera epatica e la chiudono. Quello che non fa più la ripienezza dell' intestino, lo fanno le valvole, impedendo il diretto passaggio dei detriti dai canali epatici all' intestino. Il cordoncino può sempre uscire nel solco della plica, scivolando sotto la valvola. Il moto a spira con cui entra nell' intestino produce il suo aggomitolamento. Quando, per la scarsa quantità di materiali nell' intestino valvolare, le valvole sono più chiuse, a meno che non sia quella porzione spasmodicamente contratta, condizione che in pratica probabilmente non si verifica mai, per la speciale conformazione delle valvole può probabilmente il contenuto gastrico procedere ancora, con grande lentezza, attraversando le valvole, e venendo da esse avviato verso i canali epatici.

Un punto ho lasciato espressamente in dubbio in questa descrizione. Si formano contemporaneamente due cordoncini fecali nei due solchi della grande plica, od uno solo prima nel solco inferiore (Fig. 5), condotto poi, girando in corrispondenza della punta del cieco, nel solco superiore? — Qualche volta, aprendo un cieco, si vedono due cordoncini, rispettivamente nei due solchi, qualche volta uno solo, o in uno o nell' altro. Ma ciò non dice niente. A me pare però più verosimile che si formino, o almeno si possano formare, due cordoncini contemporaneamente. Infatti, come può un cordoncino bello e formato arrivare fino alla punta del cieco, che è

ripiegata nella *depilans*, come mostra la figura, e girare repentinamente per passare nell' altro solco? Tale giramento sarebbe infatti necessario, volendo ammettere l'esistenza di un solo cordoncino, che venga cacciato via dal cieco per mezzo di un solco della plica; sarebbe necessario, dal momento che accade di trovare cordoncini fecali tanto in uno, quanto nell' altro dei solchi. A me pare assolutamente inverosimile questo giramento, giacchè non si capisce, tra le altre cose, quale potrebbe esserne la causa: le ciglia vibratili no, perchè tendono a portare il cordoncino verso la punta del cieco, da ambedue le parti; nè le contrazioni muscolari delle pareti cecali possono essere capaci di produrre un movimento così delicato e difficile. Di più, l'esame delle feci quali si presentano nell' intestino, l'esame cioè del gomitol fecale, tende a mostrare che esso possa essere formato di due pezzi avvolti insieme a spira, ma con un passo di vite differente; ciò che sarebbe in accordo colla disposizione della espansione intestinale della grande plica. Infatti i due solchi plicali, arrivando coll' espansione all' intestino, vi arrivano diversamente inclinati rispetto all' asse longitudinale dell' intestino medesimo. Se son due i cordoncini, e vengono contemporaneamente spinti nell' intestino, lungo i prolungamenti dei due solchi, ben si capisce come il gomitol debba resultar costituito di due pezzi di cordone avvolti uno a spire più strette (quello del solco inferiore nelle Fig. 5 e 2), l'altro a spire più larghe (quello dell' altro solco).

Lo ZUCCARDI (90) e il MAZZARELLI (93) si occupano brevemente della meccanica della digestione. Secondo loro, nell' ingluvie non avverrebbe quasi affatto la digestione dell' *Ulva*, ed il luogo dove essa vien digerita sarebbe l'intestino. Ciò è assolutamente inesatto, ed è precisamente il contrario. Vedremo nel prossimo capitolo, estesamente, come nell' ingluvie avvenga tutta la digestione che avviene nel canale digerente, e come in essa si trovino quelle forme di trasformazione, le quali, non più variate, si trovano poi nelle altre parti del canale digerente. Ma specialmente strana è l'affermazione positiva, che nell' intestino avvenga la digestione, mentre ivi son rari i detriti incomposti, e si trova generalmente nient' altro che gomitoli fecali; certamente non si vorrà supporre che su di essi si operi la digestione; essi infatti sono espulsi in quella stessa forma, e, d'altra parte, sarebbe veramente inconcepibile una meccanica della digestione la quale conducesse gli alimenti, prima spezzati e sminuzzati, di nuovo ad una forma compatta ed unita, perchè poi in questo ultimo stato essi subissero l'azione dei fermenti.

Si deve poi allo ZUCCARDI un altro errore. Egli descrive il passaggio della bile, ossia del secreto epatico, dal fegato all' intestino, per colà operare la digestione, come ho detto. E fa passare questa bile dalla camera epatica al solco della grande plica che è inferiore nella mia Fig. 5; di là, girando nella punta del cieco, per l'altro solco finalmente lo fa arrivare all' intestino. Egli è stato evidentemente, in questa ricerca, fuorviato in più modi dalla non conoscenza di quella stessa meccanica della digestione che egli studiava. Infatti, quella che egli chiamava qui bile, non è quello che con questo nome egli intende, vale a dire il secreto epatico; non è questo, ma i residui alimentari che tornano indietro dai canalini epatici. Nè conoscendo egli per nulla il meccanismo di formazione delle feci, questione che schiva, ha potuto capire il significato di questo cammino della bile verso la grande plica; e siccome egli la credeva il secreto epatico e pensava che dovesse necessariamente arrivare all' intestino (è evidente che tale è stato il suo pensiero), per questo si è trovato costretto a farla girare attorno alla fine dei due solchi in corrispondenza della punta del cieco, per ricondurla indietro.

Il MAZZARELLI conferma il tortuoso giro della bile, quale è descritto dallo ZUCCARDI. E per mezzo di tagli in serie di giovani *Aplisie* intere, constata che anche il cibo passa dalla cavità intestinale nel cieco e fa lo stesso giro tortuoso della bile. Con ciò, egli dice, ci si può render ragione del cammino della bile; è in questo cammino, fatto insieme dal cibo e dalla bile, che sugli alimenti viene compiuta la massima parte della digestione. »Si scorge assai bene dai tagli, che il cibo che trovasi nell' intestino prima dello sbocco del cieco epatico non ha subito nessun' azione chimica essenzialmente modificatrice, tanto che la struttura dei frammenti di *Utra lactuca*, che trovansi in esso, si riconosce mirabilmente, mentre quello che trovasi a un livello inferiore di tale sbocco è per la massima parte straordinariamente modificato, tanto da non esser riconoscibile nei suoi elementi« (pag. 85). — Come egli abbia acquistato la sicurezza del complicato giro del cibo, non capisco. Giacchè il fatto di averlo trovato nei due solchi del cieco, od anche in cima ad esso, non dimostra per nulla che in un solco cammini in un verso e nell' altro nel verso contrario. — Ma di ciò ho già discusso. Per quelle parole dell' A. che ho riportato merita però che mi fermi ancora un momento su questo punto della non digestione prima del cieco, digestione nel cieco. È giusta l'osservazione sui frammenti

di *Ulva*: prima che siano agglutinati dal muco cecale, se ne riconosce molto meglio la struttura che non dopo. Ma se si prende un po' di contenuto gastrico e si agglutina con muco cecale tra i due vetrini, nel modo suesposto, si ha immediatamente lo stesso risultato, di non capire più la natura e la struttura dei detriti. È il muco che agglutina e confonde i detriti già spezzettati. Ma questo non ha nulla a che vedere con una azione digestiva. E poi: come potrebbe essere che il cibo, per tutto quel tempo che rimane nell'ingluvie, non subisse che poco l'azione dei succhi digerenti, mentre questi lo bagnerebbero e lo digerirebbero rapidissimamente in quel breve tempo che rimane nel cieco?

Quella che lo ZUCCARDI e il MAZZARELLI hanno preso per bile nel cieco, non è bile, si tratta sempre di detriti alimentari e di muco. Il vero secreto epatico non percorre quel tortuoso cammino, nè si versa nell'intestino per il solco, prolungato, della grande plica cecale. Egli, anzi, probabilmente attraversa l'intestino soltanto di scancivo, guidato dalla speciale disposizione delle valvole. Quando, specialmente per la contrazione delle fibre muscolari proprie del fegato, il contenuto dei canalini è spinto fuori, nè può prendere la via del cieco, il quale è poco distensibile e poco ampio, contemporaneamente essendo la valvola chiusa, è necessario che il liquido che preme su di essa tenda ad aprirla. Ma ciò non deve avvenire in grande misura, altrimenti il secreto si verserebbe completamente nell'intestino, nè potrebbe risalire verso lo stomaco. Sforzando un poco la valvola, per la sua speciale conformazione, il liquido viene condotto direttamente nel secondo stomaco trituratore. Infatti se si suppone di scostare un poco i lembi valvolari dell'apertura epato-cecale (molto meno che nella Fig. 2), rimanendo cioè i due margini liberi dei lembi tra loro a contatto, due vie possono essere seguite dal liquido che spinge, nell'ulteriore cammino. Una, in basso, rompendo il combaciamento dei margini valvolari nel punto distale della valvola. Ma qui, specialmente per il fatto che i lembi si prolungano un poco al di sotto dell'apertura, la cosa non deve essere tanto facile. L'altra, in alto verso lo stomaco. Qua, per il fatto che i lembi stessi si piegano, venendo ad assumere una posizione trasversa (Fig. 3), si può dire che essi stessi, appena un poco sforzati e spinti, servono insieme colla parete intestinale da canale conduttore per il liquido. Ho più volte riscontrato, avendo tagliato il canale digerente in corrispondenza dello stomaco, poco sopra alla valvola, ed osservando per di sopra i lembi

(nello stesso modo come per disegnare la Fig. 3) che dei piccoli movimenti, per esempio un piccolo stiramento del canale digerente, sollevando un po' lo stomaco, raddrizzano in parte i lembi gastrici della valvola, e si scorge limitata da essi il principio di una specie di doccia, la quale condurrebbe, se in tali condizioni d'osservazione se ne potesse scorgere l'ulteriore cammino, all'apertura epato-cecale, tra le valvole ed essa, in modo cioè da poter penetrare nella camera epatica. È a questo possibile cammino che avevo accennato sopra, indicando come possibile il passaggio dei detriti alimentari dello stomaco alla camera epatica, lentamente e gradualmente. Se ciò avvenga non è sicuro, ma è sicuro che in senso inverso è questa la via che la secrezione epatica segue per arrivare nelle prime parti del canale digerente. Dal 2° stomaco trituratore, a cui è condotta, fino all'ingluvie, non dev'essere difficile il cammino, se nuovo liquido sopraggiungendo spinga anche debolmente, perchè gli stomachi e l'ingluvie comunicano ampiamente. E poi, perchè — si noti bene questo fatto — lo stato di contrazione dell'intestino valvolare, condizione sine qua non perchè ciò che esce dalla camera epatica non si versi senza restrizioni nell'intestino, non impedisce il cammino descritto alla secrezione epatica. Per impedirlo occorrerebbe una contrazione veramente spasmodica delle pareti intestinali, la quale non si verifica mai.

Per rendere più chiaro il concetto di questo cammino della secrezione epatica faccio una figura completamente schematica (Fig. 4^{bis}) nella quale la linea obliqua che traversa il canale digerente rappresenta il modo in cui le valvole si dispongono e con cui agiscono, tosto che siano leggermente spinte dalla secrezione epatica che vuole uscire dalla camera. — La linea punteggiata indica la posizione delle valvole per una spinta minore della camera; quando esse non sono spinte affatto, la curva descritta dalla linea punteggiata si discosta di più dalla linea retta obliqua, andando a combaciare colla parete intestinale ove è l'apertura epatico-cecale, e chiudendo contemporaneamente la comunicazione tra stomaco e intestino. La freccia indica il cammino della secrezione epatica.

Un ultimo punto rimane a rischiarare. Tanto la secrezione epatica, quanto i detriti alimentari che si trovano nel fegato, partono da uno stesso punto, i canalini epatici. Come mai prendono vie diverse? Ciò si deve in parte alla natura dei materiali, in parte al momento in cui la loro uscita dal fegato avviene. La secrezione epatica si versa nell'ingluvie in un momento della

digestione in cui ancora non vi sono i detriti alimentari nei canalini, e in questo momento si devono realizzare specialmente quelle condizioni che producono il passaggio verso l'ingluvie. L'uscita dei detriti alimentari essenzialmente si verifica in un tempo posteriore, per meccanismi differenti (non contrazione della massa epatica, ma del cieco). Però non è punto escluso che un lento versamento di secrezione epatica possa ancora avvenire, dopo che già i canalini son ricchi di detriti alimentari. Anzi, probabilmente ciò avviene. Esso, prodotto sempre dal solito meccanismo, dovrebbe trasportare dei detriti alimentari di nuovo nell'ingluvie. E non si può escludere infatti che questo fenomeno possa verificarsi parzialmente, in quei momenti nei quali, a digestione inoltrata, nuova secrezione epatica è cacciata dai canalini per mezzo delle contrazioni muscolari del fegato. Ma c'è ancora un meccanismo di difesa contro questo reflusso. Lo spazio lasciato libero dalle valvole per la secrezione epatica è molto stretto, non è mai tanto quanto nella figura schematica 4^{bis}. Cosicchè mentre è facile il passaggio per la secrezione epatica, che è liquida, i detriti alimentari solidi devono incontrare una grave difficoltà in tale passaggio; la secrezione epatica viene insomma filtrata in quel tenue passaggio, e i detriti alimentari restano nella camera epatica. D'altra parte i detriti alimentari, che son solidi, sono più facilmente trasportati dalle ciglia vibratili, che non il secreto epatico liquido. Ciascun meccanismo è dunque appropriato per condurre per via diversa un diverso materiale.

Non trovai nelle descrizioni dello ZUCCARDI, oltre le cose citate, null' altro di notevole, nè errato nè giusto. Della disposizione della valvola intestinale, destinata a doppio uso (valvola gastrica e valvola epatico-cecale) nessuno parla. Questa mancanza è già di per sè causa sufficiente per rendere una descrizione del tutto incompleta, come è evidente dalla importanza che essa valvola ha, e dai complessi uffici cui adempie.

4. La digestione degli alimenti studiata al microscopio.

Quello che avviene dell' *Utra* nel corso della digestione — come deriva in parte dall' osservazione di Aplisie esaminate dopo più o meno tempo da un pasto sperimentale, ma più ancora dalle osservazioni numerosissime di animali freschi — non è un procedimento del tutto costante. Anzi, si possono riconoscere tre modi

diversi con cui i processi digestivi possono avvenire, tutti però avendo dei caratteri comuni.

Le pareti cellulosiche delle cellule dell' *Ulva* sono normalmente ben distinte, come in tutti i tessuti vegetali, dividendo nettamente i varii elementi cellulari tra loro. La parte verde della cellula non ne occupa tutto lo spazio, ma è circondata da una zona protoplasmatica incolore. In condizioni perfettamente normali è difficile distinguere i cloroplasti tra loro, ma basta un' alterazione molto piccola perchè ciò possa avvenire (v. p. e. Fig. 38).

Quando si iniziano i processi digestivi, in generale, uno dei primi fatti visibili è la diminuzione di nettezza nei limiti tra le cellule. Tanto che si arriva ad un punto in cui essi non si distinguono più affatto. Se esistano ancora, discuteremo tra breve. Intanto osserviamo nella Fig. 28 come la parete cellulosica esterna delle cellule esista ancora, ma non più i setti. Che questa forma sia realmente un frammento di *Ulva* alterata, lo dimostra il fatto che da forme come quelle della Fig. 18 e 19 si passa a forme senza limiti cellulari, con infiniti stadii di passaggio; e, quello che è ancor più dimostrativo, è facile trovare dei frammenti di *Ulva* che hanno in parte ancor conservate le pareti intercellulari e in parte no. Questa alterazione è difficile che non si presenti, mentre accadono visibili modificazioni nell' interno delle cellule.

In pari tempo, il contenuto cellulare diviene granuloso, molto finamente; tanto finamente, che occorrono i più forti ingrandimenti, per decidere che non si tratti di una semplice opacità. Si ha l'aspetto come di un fine precipitato proteico. Quando le pareti cellulosiche intercellulari rimangono molto nette, non si osserva in generale questo precipitato granuloso (Fig. 20—24). Ma esaminiamo le più visibili alterazioni, quelle della parte verde della cellula. Essa può distruggersi in situ, dando luogo alla formazione di minuti granuli di clorofilla (Fig. 20). Si tratta evidentemente di clorofilla che precipita in tale stato, nel mentre che le altre parti dei cloroplasti, e non essa, vengono digerite. I succhi digerenti hanno dovuto traversare gradatamente le pareti intercellulari, per produrre questi fenomeni. Questo processo è del tutto simile a quello che BOTTAZZI descrive per le digestioni artificiali. E, come in esse, in questo processo si vedono nello stomaco pezzetti di *Ulva* alterati alla periferia più che al centro; alla periferia la riduzione in granuli è più avanzata, ed anzi, le cellule più esterne hanno perduto anche i granuli, divenendo incolore completamente.

Ma nella digestione naturale è questo processo molto raro. Più comunemente, ed in maggior abbondanza se ne hanno altri due, dei quali specialmente uno si mostra al principio della digestione, massime se il pasto è stato abbondante ed ha seguito un digiuno. Si tratta qui della separazione dei cloroplasti, mentre il rimanente della porzione verde delle cellule viene digerito. I cloroplasti stessi possono rimanere a gruppi ancora dentro le cellule (Fig. 24); ma questo anche non è comune. Più di frequente la loro liberazione avviene contemporaneamente alla scomparsa delle pareti intercellulari e alla formazione del precipitato granuloso, rimanendo essi dapprima addossati alle membranelle che rappresentano la parete cellulosica esterna o intermedia tra i due strati di cellule dell' *Ulva* (Fig. 25). In questa figura è mostrato anche come spesso perdano più o meno completamente il loro colorito. Ma ciò può accadere e non accadere; e, in definitiva, natano liberi nel liquido del canale digerente cloroplasti verdi o scoloriti (Fig. 40, 41, 42).

Infine, terzo processo, che è il più comune di tutti. Le parti verdi delle cellule dell' *Ulva*, mentre modificano la loro forma e si spezzano, mentre modificano la loro struttura, modificano anche il loro colore, che da verde diviene bruno-marrone, più o meno scuro. Nella Fig. 18 son rappresentati dei resti di parti verdi, ancora verdi, ma di struttura irregolare. Nella Fig. 26, addossati a un pezzetto di membranelle cellulosica son rappresentati dei grani, il cui colorito non è più così nettamente verde, e specialmente sono piuttosto bruni i granuli che essi contengono, granuli che possono interpretarsi al solito come clorofilla precipitata. La loro forma non è costante; nella Fig. 32 ne sono rappresentati dei simili, ma trovati liberi nel liquido del contenuto gastrico. È inutile avvertire che quando parlo di grani liberi nel liquido, ho fatto l'osservazione su preparati fatti colla massima cura e delicatezza, per impedire rotture artificiali di cellule ecc. — Di più scuri ne ho rappresentati nelle Fig. 28, 33, 34, 35.

Ma per bene persuaderci di questa trasformazione, esaminiamo qualche grano bruno più particolarmente e a più forte ingrandimento (1000 d.). Nelle Fig. 43—48 ne sono rappresentati di quelli natanti liberi nel contenuto del canale digerente. La struttura granulare di alcuni ricorda perfettamente, salvo il colore, alcune forme verdi di alterazione. Si confronti p. e. la Fig. 47 con alcune cellule della Fig. 21. Ma quei grani che più interessano sono quelli i quali contengono nel loro interno dei corpiccioli ovali, più intensamente

colorati. Si veda la Fig. 45. Quei corpiccioli sono del tutto paragonabili ai cloroplasti, ed è evidente che derivano da essi, venendo poi gradatamente consumati e distrutti, per dar luogo alla struttura granulare. Le forme con questi cloroplasti bruni sono assai frequenti, sebbene abbia disegnato un solo grano in cui è ben netta la cosa. Questi che interpreto come cloroplasti bruni sono, è vero, nel caso della figura, più piccoli dei cloroplasti normali. Ciò è però naturale. Siamo appunto in presenza di un processo digestivo, e interpretiamo la granulazione come effetto di digestione dei cloroplasti, la clorofilla esclusa. L'impiccolimento dei cloroplasti è evidentemente uno stadio di questo processo digestivo.

Però, dalle esperienze di digestione artificiale di BOTTAZZI salta fuori un' obbiezione. Come è che, mentre là non accade un imbrunimento della clorofilla, qua si? O meglio, se è vero, come tenderebbero a far credere quelle esperienze, che il succo gastrico non ha la capacità di imbrunire la clorofilla, non c'è il pericolo che questi processi di trasformazione che io ho descritto siano completamente errati, e i grani bruni abbiano origine del tutto diversa? Veramente l'osservazione diretta dei vari stadii, lo studio delle forme verdi e brune non potrebbe lasciar dubbio. Ma è bene dimostrare anche con argomenti di altro genere che questa obbiezione non vale a distruggere l'affermazione della trasformazione suesposta.

Innanzitutto, voglio citare l'osservazione delle diatomee contenute nello stomaco, le quali van soggette alla stessa modificazione di colore. Ne ho rappresentate di due specie (Fig. 49, 50), ma non sono certamente le più belle che abbia osservato. Tra le moltissime specie (*Diatoma*, *Pleurosigma*, *Navicula*, *Achnanthidium*, *Rhizosolenia* ecc.), che si trovano nel canale digerente delle Aplisie, citerò per queste trasformazioni specialmente diatomee appartenenti ai generi *Diatoma* e *Navicula*. I cloroplasti sono nelle diatomee normali molto abbondanti e fitti. Ma nel canale digerente delle Aplisie, vi sono diatomee con molti e con pochi cloroplasti, fino a non averne punto. E i cloroplasti possono essere verdi, normali e pochi. Ma più di frequente quando son pochi sono bruni, e spesso anche sono molti, come normalmente, e bruni. Cito le diatomee, perchè qua non è possibile prendere abbagli. I cloroplasti sono contenuti dentro al guscio che è sempre riconoscibile; e poi anche per la possibilità di trovare insieme in una stessa diatomea cloroplasti verdi e bruni uniti insieme. Nonchè, per un terzo fatto: che quando l'imbrunimento non è troppo avanzato, versando una goccia

d'alcool tra il copri-oggetti e il porta-oggetti, si vede ricomparire il colore verde — ed ecco come. Bisogna che l'alcool sia in scarsa quantità; allora arriva alla diatomea che si sta osservando, vi penetra, scioglie la clorofilla contenutavi, ma non la porta via subito. La diatomea rimane riempita di una soluzione di clorofilla. Ora, questa soluzione che è verde intensa se la diatomea è normale, è pur sempre verde nel caso che i cloroplasti siano poco imbruniti; ed è bruna soltanto quando il loro imbrunimento è molto avanzato. Dimostrano intanto queste osservazioni sulle diatomee, in modo indiscutibile, che il succo gastrico ha la proprietà di far divenire bruna la clorofilla. Nulla di strano dunque che ciò avvenga per quella dell' *Ulva*.

Ma è anche facile di trovare la causa di questa trasformazione. È già noto da lungo tempo che il contenuto gastrico dell' *Aplisia* è acido, ed anch' io ho potuto verificare questa reazione, nessun caso eccettuato. Ora, se si prende una foglia di *Ulva* e si immerge in un liquido acido, essa, presto se l'acidità è forte, lentamente se è debole, assume il medesimo colore bruno che nello stomaco, come si può osservare macro- e microscopicamente. La stessa trasformazione avviene in un estratto alcoolico di *Ulva*, per l'aggiunta di qualche goccia di HCl.

Ricerche più precise e sicure in proposito sono le ricerche spettroscopiche. Lo spettro normale della clorofilla viene modificato colla acidificazione nel modo che è esposto più avanti, sì che lo spettro della clorofilla normale e della clorofilla acida sono nettamente caratterizzati, distinti tra loro e riconoscibili. Orbene, vi sono delle condizioni nelle quali le feci delle *Aplisie*, raccolte nella vasca o prese nell' intestino, sono costituite di resti incolori e poi di una quantità straordinaria di quei grani bruni. Facendo un estratto alcoolico di queste feci, ho potuto riconoscere in esso nel modo il più netto lo spettro della clorofilla acidificata. Questo argomento è completamente decisivo, giacchè in quelle feci non vi sono altro che quei grani bruni che siano colorati; il resto è costituito da detriti specialmente di pareti cellulosiche delle cellule vegetali. Bisogna dunque concludere che i grani bruni del contenuto gastrico e intestinale devono il loro colore alla clorofilla acidificata; e quindi che sono cellule dell' *Ulva* o parti di cellule modificate per l'azione dei liquidi digerenti. Ma poichè questa conclusione mi condurrà ad altre relative alla funzione epatica, che sono in completa opposizione con affermazioni del FRENZEL, non mi stancherò

di portare argomenti diretti e indiretti che la confermino, ogni volta che capiti l'occasione.

Intanto, confrontando ancora i grani bruni colle cellule da cui derivano, vediamo che la loro grandezza è minore. Ciò può accadere in parte per i processi digestivi, che, anche senza sciogliere la clorofilla, abbiano sciolto altre sostanze, sì che tutta la parte verde della cellula si sia contratta. E che sia così lo dimostra per esempio la sparizione dell' amido: in un grano bruno non c'è mai amido, mentre è dimostrato abbondantissimo dalla reazione dell' I (soluzione iodo-iodurata con tracce di H^2SO^4) nell' *Ulva* normale. Anche nelle altre forme di digestione l'amido sparisce molto presto, ed insieme all' amido forse anche altre sostanze vengono disciolte, forse anche parte della clorofilla; si ha dunque una potente ragione nei processi digestivi per la diminuzione di volume. Ma non è escluso che una cellula possa dar luogo a più di un grano, frammentandosi.

Abbiamo dunque, per l'osservazione dei precedenti fatti, da concludere relativamente alla digestione nel canale digerente, che essa è incostante nella sua forma. Ma ora che ci siamo resi conto esattamente degli effetti della acidità sulla clorofilla, possiamo spingere oltre le nostre considerazioni. Si osservi come, quando ci sono grani bruni, i resti incolori delle cellule siano sempre a struttura finamente granulosa. Quando non vi sono grani bruni, può avvenire, ma è raro; in generale le cellule sono trasparenti e senza granulazione. E ancora: quando ci sono i grani bruni, le pareti intercellulari spariscono. Quando essi non ci sono, e specialmente nella forma di digestione a granuli, quelle pareti sono conservate, come lo sono nelle esperienze di BOTTAZZI. Questi due fatti, struttura granulare e sparizione delle pareti intercellulari sono dunque legati all' acidità dello stomaco, la quale — ne abbiamo nel colore della clorofilla un indice sicuro — non è sempre costante nella sua intensità. Quanto alla struttura granulare, è evidentemente essa la conseguenza di una precipitazione proteica, dovuta appunto all' acidità del succo gastrico. Conferma questa idea il fatto che un poco di HCl diluito su erba normale anche di terra produce immediatamente quello stesso aspetto granuloso del protoplasma. Nel caso delle *Aplisie*, i granuli di precipitato si trovano poi anche liberi nel liquido gastrico, e vi si ritrovano abbondantissimi dopo che le cellule dell' *Ulva* si sono rotte e divise.

L'altro fatto, delle pareti intercellulari, è più importante. Giac-

chè BOTTAZZI ha anche fatto esperienze di digestione artificiale sul celluloso, con risultato negativo. Mentre che, perchè i cloroplasti e i grani bruni possano uscire dalle cellule, è evidente che le pareti di celluloso si devono rompere in qualche modo, e, giacchè è difficile pensare ad altri meccanismi di rottura, più precisamente devono venire digerite. Non è necessario che ciò avvenga delle pareti esterne dell' *Ulva*, più grosse e resistenti, ma almeno per le pareti intercellulari deve avvenire. Veramente, una volta dimostrato che nelle digestioni artificiali il succo gastrico manca di una proprietà che ha normalmente, quella di imbrunire la clorofilla, ed anche di dar luogo a quei varii processi di digestione, oltre il granulare, che abbiamo descritto, nessuna conclusione negativa si può trarre da esperienze di digestione artificiale, fatte nelle stesse condizioni. Insisto su questa digestione del celluloso, non essendo essa generale negli animali. Sappiamo infatti come esso sia quasi completamente indigeribile nell' uomo e nei carnivori. Non deve però destare meraviglia che le Aplisie, animali erbivori per eccellenza, possano digerirlo; questo non è fatto nuovo, giacchè, nella chiocciola BIEDERMANN & MORITZ (98) hanno seguito il processo digestivo del celluloso nel succo gastrico, microscopicamente e chimicamente. Torneremo quindi a parlare di questa questione, a proposito della chiocciola.

Intanto mi preme di stabilire nel succo gastrico l'esistenza di:

1) un enzima amilolitico, che si trova sempre ed agisce rapidamente nei primi momenti della digestione;

2) un enzima cellulosolitico, che si trova ed agisce nei primi momenti della digestione e dopo meno energicamente. A proposito della chiocciola è ancora discussa tale questione, e mostrato come esso probabilmente cessa di agire in periodi più avanzati (considerazioni sulle ricerche di BOTTAZZI);

3) un enzima proteolitico, che agisce più tardi, generalmente. Infatti i cloroplasti integri dei primi stadii digestivi accennano a una mancata proteolisi, mentre i grani bruni, per la loro contrazione e per la clorofilla precipitata che in essi si trova, dimostrano la proteolisi. Non può evidentemente precipitare in granuli la clorofilla, se non viene digerita la sostanza proteica con cui essa è combinata nel cloroplasto;

4) un acido, che esiste sempre, ma in maggior copia sopraggiunge quando arriva il fermento proteolitico. Esso non è la stessa cosa del fermento proteolitico, perchè qualche volta si ha proteolisi

(digestione che conduce alla clorofilla precipitata in granuli verdi), senza acidificazione (clorofilla verde — mancanza del precipitato proteico granuloso).

In piena estate sembra che queste varie sostanze agiscano più contemporaneamente, giacchè manca quasi del tutto la forma di digestione che conduce alla formazione di cloroplasti liberi ed integri, e l'imbrunimento della clorofilla è molto più rapido.

Le diatomee, di cui ho già detto qualche cosa, vengono evidentemente anch' esse digerite dai succhi del canale digerente. Infatti si possono osservare tutti gli stadii che conducono dalla diatomea normale alla diatomea privata di tutti i suoi cloroplasti, di cui cioè non si vede altro che il guscio; si potrà talora trattare di diatomee ingerite morte, ma il fatto di trovare (anzi queste sono le forme più frequenti) diatomee con pochi cloroplasti, e più o meno secondo i casi, indica che anche i gusci vuoti derivano, in parte almeno, da diatomee normali digerite dalle Aplisie. L'amido anche sparisce; mentre le diatomee piene di cloroplasti ne sono molto ricche ed anneriscono molto con la reazione dell' jodio, è difficile che dell' amido esista in quelle con ormai pochi cloroplasti. Al solito, l'imbrunimento della clorofilla non avviene sempre di pari passo colla intensità dei processi digestivi; si trovano spesso diatomee piene di cloroplasti, imbruniti, altre volte diatomee con pochissimi, anche solo uno o due cloroplasti, ancora verdi. Quello che accade della clorofilla e dei cloroplasti delle diatomee non saprei dirlo. Per la grande scarsità di esse, in confronto colle cellule dell' *Ulva*, è ben difficile riconoscere se, tra la varietà straordinaria di grani bruni derivati dall' *Ulva*, ve ne sia qualcuno che derivi invece dalle diatomee; ciò può essere, ma io non posso nè affermarlo nè negarlo. Solo osservo che grani bruni i quali abbiano il significato di quelli dell' *Ulva*, vale a dire di cellule intere o grossi pezzi (esclusa solo la parete di celluloso) non ve ne possono essere liberi derivanti dalle diatomee; infatti in esse la sparizione dei cloroplasti avviene gradualmente; e già a priori non si intenderebbe come tutta la parte vitale della diatomea potesse uscire dal guscio, attraversandolo; ma è difficile anche pensare che i cloroplasti isolati, ma interi, lo attraversino; è probabile dunque che in questo caso avvenga il processo di dissoluzione, che già abbiamo visto esistere per l'*Ulva*. I gusci vengono sempre eliminati colle feci, nè sembra che siano affatto attaccati dal-

l'acido del succo gastrico. Infatti, anche nelle feci, sono sempre integri.

Descrivendo il contenuto del canale digerente mi sono riferito specialmente all'ingluvie. Ma tutte le stesse forme si possono trovare in tutte le parti del canale digerente, compresa la camera epatica e il cieco e i canalini epatici. Le feci stesse sono costituite dei medesimi materiali, strettamente agglutinati col muco cecale. Sono solo i grossi pezzi di erba, che difficilmente si incontrano al di sotto dello stomaco trituratore. Ma dopo avere accennato alle questioni della meccanica del canale digerente, ed in modo speciale al funzionamento della valvola intestinale, bisogna che mi soffermi un poco anche sulle diverse condizioni in cui si trovano i materiali nel canale digerente, a seconda dello stato di nutrizione ecc.

In primo luogo, ho osservato che in estate le feci sono di un colorito quasi sempre bruno o bruno scuro, mentre che nella stagione più fredda (si riferiscono le mie osservazioni non al di là del novembre, ma già era molto abbassata la temperatura) è frequentissimo il colore verde. Ciò indicherebbe una minore acidità del succo gastrico, o una minore azione dell'acido a temperatura più bassa, o forse anche un generale rallentamento delle funzioni digestive. Se prendiamo a considerare quello che accade nel novembre, ci troviamo di fronte a un fatto molto caratteristico. Animali presi freschi dal mare, o che hanno mangiato da poco nelle vasche del laboratorio, emettono feci verdi, quasi senza eccezione. E il colore verde è così intenso come quello di una densissima soluzione alcolica di clorofilla; molto più scuro quindi del colore dell'*Ulva*. L'esame microscopico di queste feci dimostra in esse l'esistenza di molti cloroplasti liberi, più o meno scoloriti, e cellule vegetali più o meno trasformate, ma sempre intensamente verdi. Lo spettro dell'estratto alcoolico è quello della clorofilla non acidificata. Grani bruni pochissimi. Pezzi di erba assai grossi, poco spezzettati e poco modificati si trovano tanto più facilmente quanto più abbondante era stato il pasto. Le prime feci appartenenti all'ultimo pasto (riconoscibili per il colore da eventuali resti di un pasto precedente) ne sono più ricche, spesso esse sono ammassi informi, specialmente se si tratti di un pasto molto abbondante dopo un lungo digiuno. Le feci più tardive cominciano a presentare più grani bruni e meno forme della digestione verde (mi si permetta questa espressione abbreviata); ma spesso occorre più d'un giorno prima

che le feci assumano un colore bruno chiaro. Le successioni dei colori sono: verde scuro, verde più chiaro, poi tendente al giallo-bruno, giallo-bruno chiaro, fino al bruno scuro quasi nero. Quando il colore è giallo-bruno (spettro della clorofilla acidificata) i grani bruni predominano, le forme verdi scarseggiano, poi spariscono del tutto. Ma anche nei singoli grani bruni l'aspetto cambia, inquantochè il colore è dapprima più chiaro, nelle feci più tardive più scuro, e le dimensioni sono anche, in queste ultime, più piccole, cioè i grani stessi vanno sempre più impiccolendo. Questi diversi aspetti delle feci sono l'espressione di un fatto semplicissimo: che esse vengono emesse a tutti gli stadii della digestione, sì che le prime naturalmente contengono forme quali si osservano a preferenza anche nell'ingluvie nei primi stadii, le ultime, forme degli ultimi.

Questo fatto, di trovare nelle prime feci tante forme di cellule anche affatto inalterate, il che significa perdere una quantità considerevole di materiali ingeriti, mi ha fatto molto pensare. Esso può dipendere unicamente dall' avere le Aplisie in generale abbondanti alimenti a loro disposizione, sì che mangiano voracemente anche più del necessario, troppo per la capacità volumetrica e la potenzialità digestiva del loro canale digerente. Ma anche dopo un pasto non molto abbondante in esperienze di laboratorio, o in Aplisie venute fresche dal mare e in cui si trovi l'ingluvie non molto riempita, quando lo stadio della digestione è precoce le feci contengono grandissima quantità di forme indigerite. Dunque, oltre che nella quantità eccessiva di erba mangiata, può ricercarsi la causa di questo fatto in altre condizioni del canale digerente. Esso dà evidenti segni, espellendo feci subito poco dopo il pasto, ed espellendo feci ricche di materiali indigeriti anche dopo pasti poco abbondanti, dà evidenti segni di una necessità ineluttabile di espellere feci, durante tutto il periodo digestivo. Queste prime feci non hanno il significato di resti indigeribili o di resti di un pasto sovrabbondante: sono dunque l'espressione di condizioni speciali, meccaniche, del canale digerente. E si può facilmente riconoscere quali siano queste condizioni speciali, basandosi sulle nozioni acquistate intorno alla meccanica del canale digerente. Abbiamo visto che gli alimenti entrano nei canali epatici e come vi entrano. Lo scopo di questo fatto a più tardi. Ricordiamo che la valvola intestinale è una ed una sola, che funziona come un tutto, nè esistono meccanismi che aprano separatamente la porzione gastrica o la cecale. Subito dopo il pasto, quando i primi materiali

penetrano nella camera epatica, non essendovi ancora materiale che, riempiendo l'intestino, offra una certa resistenza al passaggio per quella via di quelli espulsi dallo stomaco, qualche cosa vi passa direttamente, senza aver percorsa la lunga via del cieco, e quindi uscendo anche dall'intestino senza la forma caratteristica dei cordoncini aggomitolati. Dopo questo primissimo momento, le ciglia vibratili dei canali di passaggio, le quali funzionano sempre, tendono a svuotare i canali epatici, cacciandone via i materiali in qualunque stato si trovino, avviandoli verso il cieco, dove divengono feci. Per questo movimento delle ciglia, i canalini epatici non possono restare pieni se nuovo materiale non sopraggiunge continuamente per compensare questa corrente retrograda. Il contenuto dei canalini insomma ha sempre una doppia corrente, periferica, lungo l'epitelio vibratile, retrograda, mentre evidentemente i liquidi spinti dentro i canalini passano nel mezzo. Se questo meccanismo può in certo modo considerarsi come difettoso, perchè i materiali usciti dai canalini, digeriti o no, passano per il cieco e vengono espulsi come feci, d'altra parte è forse questo moto continuo un potente fattore per quei processi di assorbimento che studieremo tra breve.

Queste speciali condizioni delle feci potrebbero ancora servire a dimostrare che i grani bruni non sono altro che trasformazioni delle cellule vegetali. Infatti si osserva proprio una graduale sostituzione, che arriva ad esser completa, dei grani bruni alle cellule verdi, più tempo che passa dopo il pasto.

Alcune poche osservazioni sul contenuto del canale digerente durante il digiuno termineranno questo capitolo. Dopo la grande espulsione di feci che avviene a poca distanza dal pasto, e che seguita ancora notevole per un giorno o due, ad intervalli, gradualmente diminuisce la quantità di feci che viene espulsa; ma anche dopo qualche giorno può venirne cacciato un po', specialmente se l'animale, pur restando nella vasea, viene stimolato meccanicamente e smosso. Però, dopo diversi giorni l'espulsione di feci diviene insignificante o nulla; così p. e., non si trovano feci nella vasea pulita ove siano poste *Aplisie* digiunanti da 8—10 giorni. Però nell'interno dell'intestino si può trovarne una piccola quantità anche dopo digiuno prolungato. Per contro, l'ingluvie dopo lungo digiuno non contiene più nessun detrito alimentare. Il suo abbondante contenuto in gran parte liquido, che vi si trova, come abbiám detto, in un periodo avanzato della digestione, a poco a poco diminuisce, e sono specialmente i detriti alimentari che se ne vanno o vengono

ulteriormente digeriti. Infine resta solo un poco di liquido scarso, molto scarso dopo 10—15 giorni di digiuno, senza detriti. Naturalmente questo »senza detriti« va inteso non con esattezza matematica. Ricercando attentamente, esaminando più gocce di liquido al microscopio, può essere che qualche grano bruno si possa ancora scorgere, e anche dei pezzetti di *Ulva* senza più struttura e con diversi grani bruni addossati. Forme verdi è rarissimo che vi si possano scorgere. Questo scarso contenuto è ancora acido.

Va ricordato che i grani bruni presenti nello stomaco durante il digiuno sono molto più piccoli del consueto. Si guardino p. e. quelli della Fig. 35. Essi son tolti da un animale preso fresco dal mare; ma siccome tutto il canale digerente era svuotato, con scarsi detriti e una certa quantità di liquido, è evidente che si trattava di un animale a digiuno da qualche tempo. Si trovan più piccoli, e ciò indica, senza dubbio, che un lento processo di digestione continua su di essi per parte del succo gastrico, quando vi rimangono a lungo a contatto.

Per quello che si riferisce a lunghi digiuni, come i sopra ricordati, si tratta sempre di esperienze fatte non in piena estate; giacchè in questo caso la temperatura troppo elevata (circa 30°) non permetteva alle Aplisie di resistere a un soggiorno così prolungato nelle vasche del laboratorio, a digiuno.

5. Fegato. — Cellule assorbenti clorofilliche.

Cominciando dalle cellule assorbenti clorofilliche (Körnerzellen, FRENZEL — Leberzellen, BARFURTH — Resorptionszellen, BIEDERMANN & MORITZ) prendiamole ad esaminare dapprima in un animale riccamente pasciuto e in stato di digestione non troppo avanzata (veggasi p. e. la Fig. 54). Il fondo della cellula, la parte protoplasmatica, è quasi completamente nascosta da quei corpi colorati. Essa ha una struttura assai finamente granulosa, e poco più se ne può dire. La forma generale è allungata, un poco appuntita, e un po' ricurva, irregolarmente; la base non è raggiunta dai corpi pigmentati. In un punto assai vicino alla base si trova il nucleo, che appare come una macchia più chiara tra i corpi scuri, e della cui struttura ben poco si vede. Quello che più interessa di studiare particolarmente sono i corpi pigmentati. Ve ne è di due qualità: più grandi, bruni, e più piccoli, verdi. Si trovano anche cellule ripiene di soli corpi bruni e, molto più raramente, di soli corpi

verdi o quasi. La prima questione che si presenta è: che cosa sono tutti questi corpi? — Cominciamo dai più scuri. Quando si osservano in cellule in cui sono molto ammassati, non se ne distingue bene la struttura, ed essi appaiono anche più scuri di quando sono in cellule meno ricche di essi, o liberi. Ma siccome per quest' ultimo caso può nascere il dubbio, nell' esame a fresco, di aver sott' occhio un grano contenuto in un canalino epatico e proveniente dagli elementi, anzichè un grano derivante realmente da una cellula, prendo in considerazione solo grani di cui potevo esser sicuro che, anzichè liberi, erano dentro a una cellula. Ne ho disegnato uno a 1000 d. nella Fig. 62, che appunto si trovava in queste condizioni. Esso ricorda i grani bruni del canale digerente, e si potrebbe ravvicinare p. e. a quelli figurati nelle Fig. 47 e 48. Anche alcuni dentro la cellula 52 sono molto simili. Quello della Fig. 63, molto scuro, si può ravvicinare a quelli delle Fig. 43 e 44. Anche quelli delle Fig. 60 e 61 sono interessanti, perchè alcuni di quei granuli interni più scuri non hanno un aspetto angoloso, ma sono rotondeggianti, come i cloroplasti bruni nel contenuto gastrico. Ma la dimostrazione che i grani bruni del canale digerente e quelli di queste cellule sono tutto una cosa, risulterà evidente ancor più da argomenti indiretti. Dimostrarlo direttamente con figure è difficile, perchè i grani bruni sono così varii nel loro aspetto che non ve ne sono due uguali tra loro. È quindi solo l'immenso numero che ne ho potuto osservare quotidianamente, sia nel canale digerente, sia nelle cellule, quello che, anche per via diretta, mi ha dato la certezza assoluta di questo fatto. I corpi più chiari, verdi, sono dello stesso colore dei cloroplasti liberi che si trovano nel canale digerente; per rifrangenza pure sono identici ad essi; soltanto più spesso tondi che ellissoidi, e in questo generalmente differiscono un poco da quelli del canale digerente. La grandezza è su per giù la stessa. Il risultato delle mie osservazioni è dunque questo: le *Körnerzellen* di FRENZEL nelle *Aplisie* sono cellule in cui si trovano cloroplasti e grani bruni — trasformazioni di cellule dell' *Ulva* i quali derivano dal contenuto del canale digerente. Cominciamo ora la lunga serie degli argomenti dimostrativi indiretti.

È noto da un pezzo che nel fegato dei Molluschi, ossia di alcuni Molluschi, si trova della clorofilla. L'estratto alcoolico ne dà lo spettro. Io ho potuto riconoscere che, più precisamente, lo spettro dell' estratto alcoolico del fegato è quello della clorofilla acidificata, uguale cioè a quello dell' estratto dei grani bruni. Ma,

si può dire, nei canalini epatici vi sono grani bruni provenienti dal canale digerente. Ad essi devesi lo spettro. Ora, a meno che non si voglia fare obiezioni per partito preso, tale argomento non ha valore. Perchè, se l'estratto si fa quando l'animale è digiuno da uno o due giorni, con contenuto del canale digerente scarso, con canalini epatici non molto riempiti, si trova ugualmente che lo spettro della clorofilla acidificata è intensissimo. Ricordo ancora la reazione di solubilità nell'alcool di questi grani endocellulari. La reazione la ho fatta su sezioni di pezzi inclusi in gomma-sciroppo, in cui i grani erano conservati. Nei pezzi inclusi in paraffina, che passano per alcool e toluolo od altro, non vengon mai conservati. Ma gli argomenti più caratteristici derivano dall'osservazione di queste cellule in varii stati di alimentazione dell'animale.

Se si esaminano animali venuti freschi dal mare, i grani, più o meno, son sempre abbondanti. Le differenze sono nei rapporti tra grani verdi e grani bruni. Tolgo qualche esempio molto significativo dai miei appunti giornalieri.

I. *Aplysia depilans*, freschissima. Il contenuto dell'ingluvie (al solito acido) consta di moltissima *Ulva*, quasi tutta verde, assai frammentata. Però, vi sono dei piccoli tratti, visibili a occhio nudo, di color marrone, e da uno di questi è tolta la Fig. 32. Il contenuto intestinale è pure in parte verde, ma vi sono anche molti grani bruni. Tra le forme verdi sono interessanti quelle rappresentate nella Fig. 24. Le Körnerzellen sono di aspetto vario: alcune completamente verdi, o quasi (p. e. Fig. 53 un po' contratta), altre invece più ricche di grani bruni, che in alcune sono l'unico contenuto. Il colore bruno o marrone non è mai diffuso. Nella Fig. 54 appare il contrario, ma quel colorito di fondo è dovuto (come si riconosce fochettando con cura) ai grani bruni che si trovano in piani diversi da quelli che sono rappresentati nella figura, e quindi fuor di fuoco. Invece il colore verde può trovarsi in certo modo diffuso (v. Fig. 56). Se si tratti di una vera colorazione diffusa o di un ammasso di granuli minutissimi non è riconoscibile con sicurezza, ma questa seconda ipotesi appare più probabile. Fin qui i miei appunti. Aggiungo, quanto a quest'ultima questione, che l'ipotesi dei minuti granuli è resa probabile anche dal fatto che, come ho già detto più sopra, una delle forme della trasformazione digestiva conduce appunto alla formazione e alla liberazione di minutissimi granuli di clorofilla (Fig. 20). Questa *Aplisia* era, come si rileva dall'osservazione del contenuto del canale digerente, in

uno stadio non avanzato della digestione, o meglio a non molta distanza dall' ultimo pasto. Infatti il contenuto dell' ingluvie era molto abbondante e molto ricco di erba; l'abbondanza delle forme verdi abbiamo già imparato a conoscere che è pure segno caratteristico di aver mangiato non molto prima. Si noti la coincidenza di questi due fatti: la abbondanza di forme verdi nel canale digerente — l'abbondanza di grani verdi nelle Körnerzellen. È molto raro trovare di queste cellule quasi interamente verdi, come in questo individuo ho osservato e come è disegnato nella figura.

II. *Aplysia limacina*, freschissima. L'ingluvie non contiene molta roba, e quello che vi si trova è per la massima parte in avanzata digestione. Sono detriti in generale assai piccoli, alcuni con confini netti (ne è disegnato uno a 50 d. nella Fig. 27), altri col margine irregolarmente spezzato. A più forte ingrandimento si vede che i grani son quasi tutti bruni, e assai piccoli (Fig. 28). Vi è qualche grano verdognolo, ma pochissimi. Diverse diatomee, un po' imbrunite, ed alcune svuotate del contenuto pigmentato (Fig. 50). Nel fegato, le Körnerzellen hanno i grani tutti bruni e assai scuri. Vi sono anche delle cellule senza grani pigmentati (Fig. 58) con dei corpi tondeggianti incolori (grani scoloritisi dentro alla cellula?). Evidentemente era un pezzetto che l'animale non mangiava: ciò è evidente per il fatto che, dopo un pasto, rimane assai a lungo un abbondante contenuto nell' ingluvie.

Si noti la coincidenza: grani bruni (verdognoli per eccezione) nel canale digerente — grani bruni nelle Körnerzellen.

III. *Aplysia limacina*, venuta colla precedente, ed esaminata, invece che subito, dopo 3 giorni di digiuno. I due animali erano della stessa grandezza e presentavano, al loro arrivo, uguali condizioni di tonicità. Il colore della ghiandola ermafrodita era in questa seconda (quando fu aperta) un rosso mattone assai eccezionale per quest' organo. Lo stesso colore aveva la ghiandola ermafrodita dell' altra *Aplysia*. Tutto concorre a far credere che fossero, all' arrivo, in condizioni fisiologiche molto simili. Contenuto del canale digerente su per giù come nell' animale precedente; forse più scarso. Isolare una Körnerzelle nel fegato è impresa difficilissima. Provando a lungo, con numerosissimi e ripetuti tentativi, non riesco ad esser sicuro di avere sott' occhio realmente una cellula integra, anzichè un frammento o un aggregato di granuli. Però in queste strutture non definibili i grani bruni sono ben riconoscibili. Essi sono piuttosto scarsi, spesso un po' scoloriti. Ab-

bondano invece quei corpi tondeggianti incolori trovati anche nell'animale precedente. I granuli nei grani non sono riconoscibili, in generale, nonostante che i grani stessi sian radi e si possano esaminare con facilità separatamente (v. per queste cose la Fig. 59).

È notevole come in questo animale, assoggettato a un breve digiuno, i grani bruni delle cellule siano molto diminuiti, e si osservino specialmente nella Fig. 59 quegli stadii di scolorimento.

IV. *Aplysia limacina*, tre giorni a digiuno in laboratorio. Contenuto dell'ingluvie liquido assai acido, con scarsissimi detriti. Feci, nell'intestino, con grani bruni. Esse non sono molto abbondanti. Le Körnerzellen sono piuttosto sottili, con pareti grinzose, anzichè distese come negli animali ben pasciuti. I grani offrono speciali modificazioni. Ve ne ha dei bruni, al solito, ma relativamente assai chiari e contenenti granuli di colore simile e un po' più scuri, secondo il solito (qualenno di questi granuli è disegnato nella Fig. 64). Altri grani hanno i granuli di color rosa, pur essendo i grani stessi verde-bruni (Fig. 65). Altri infine sono completamente divenuti rosa coi granuli più scuri, più o meno fitti (Fig. 66) o senza granuli (Fig. 67). Gli stadii intermedi a quelli disegnati sono varii e numerosi. I granuli sono per lo più tondeggianti, con contorno più seuro, e ben distinti. I grani rosa sono per lo più assai esattamente sferici.

Si osservi come la diminuzione dei grani per causa del digiuno non dipenda da eliminazione dei grani stessi, ma da trasformazione di essi nell'interno delle cellule: nelle feci non si ritrovano mai grani rosa.

V. *Aplysia limacina*, a digiuno da 11 giorni. Contenuto dell'ingluvie (acido) con scarsi detriti. Nell'intestino, poche feci giallognole chiare, in cui si osserva qualche grano bruno o verde poco alterato. Nel fegato, grani bruni nemmeno uno. Körnerzellen, difficilissime a vedersi; impossibile nel loro stato naturale. Ho visto dei corpi ovali molto piccoli, di struttura indefinibile, che erano probabilmente esse, prive dei grani e un po' contratte.

In accordo colla mancanza dei grani sta il fatto che l'estratto alcoolico del fegato mostra lo spettro della clorofilla appena riconoscibile: la stria fondamentale è appena visibile.

VI. *Aplysia limacina*. A digiuno da 10 giorni, insieme colla precedente. Oggi, posta a ore 9 in una vasca coll' *Ulva*, ha mangiato per qualche ora molto voracemente, e poi si è posta ferma e tranquilla attaccata a una parete laterale del bacino. Alle 15 è

aperta ed esaminata. Ingluvie pienissima di *Ulva* in pezzi grossi, nell' intestino feci verdi con cloroplasti liberi, senza grani bruni. Fegato: nessun grano bruno, nemmeno uno, nè dentro, nè fuori delle cellule. Körnerzellen in stato normale non son riuscito a vederle. Tutt' al più in forma ovale assai allungata. Quelle divenute completamente sferiche non superano 8—10 μ . Esse contengono grani verdi, del solito aspetto, forme e dimensioni.

VII. *Aplysia limacina*, venuta insieme colle precedenti e tenuta a digiuno nella stessa vasca. Dopo 11 giorni, a ore 9 viene posta in una vasca con dell' *Ulva*, mentre la V veniva esaminata. Mangia per lungo tempo. A ore 17 viene tolta da questa vasca, e rimessa in quella dove era prima, senza erba. Aveva già spontaneamente cessato di mangiare, e stava ferma, piuttosto rigonfiata, attaccata a una parete laterale del bacino. Il giorno seguente viene aperta ed esaminata a ore 10. Ingluvie non troppo distesa, piena di *Ulva* in pezzi ancora grossi, e con liquido scarso. Contenuto intestinale verde. Al microscopio, prevalgono le forme verdi, ma vi sono anche grani bruni. Fegato: Körnerzellen piccole e con pochi grani, tanto bruni, quanto verdi (p. e. Fig. 52). Questa cellula che ho disegnato è una delle più grandi e più piene di grani. I grani bruni mostrano spesso evidente la loro struttura, con granuli più scuri nell' interno (Fig. 62). Si trovano nell' interno delle cellule misti senza regola coi verdi, e sempre verso un lato della cellula che spesso si riconosce (dalla posizione del nucleo) essere la base. Se ne trova però sempre qualcuno anche all' apice o a mezza via. La cellula disegnata è evidentemente già un po' contratta, specialmente dal lato della base, che è rotondeggiante, anzichè tagliata come nelle Fig. 54, 55 ecc.

La presenza di questi grani nelle cellule è quanto mai significativa. Abbiamo visto infatti che col lungo digiuno essi spariscono del tutto (e l'osservazione l'ho fatta tante volte, che non è affatto dubbia); dunque in quest' animale i grani derivano dal nuovo pasto, dal pasto dopo il digiuno: i grani nelle cellule sono dunque conseguenza immediata del pasto.

E, confrontando le due ultime esperienze, prima entrano i grani verdi, poi i grani bruni e verdi insieme. Ciò è in accordo coi processi digestivi: i cloroplasti liberi appaiono quasi subito dopo il pasto, i grani bruni più tardi. Ripeto che le esperienze di cui ho citato qualche esempio, le ho fatte numerose, e ripetendole nelle stesse condizioni, si che i risultati, che ho ottenuto concordi, non

sono dubbii. In due parole, deriva dallo studio delle Körnerzellen nelle varie condizioni sperimentali e naturali di alimentazione, che i grani in esse contenuti spariscono col digiuno, tornano colla nuova alimentazione. Prima i verdi, poi i bruni. Per questa via dunque si dimostra il loro significato funzionale di grani assorbiti. E qui fermiamoci un momento a discutere le opinioni di BARFURTH e di FRENZEL in proposito, già tra loro discordi. I grani bruni sono, secondo il B., grani di escreto, secondo l'altro, di secreto. Ma quali prove adducono? Ambedue la stessa, interpretata diversamente, cioè l'esistenza dei grani bruni nelle feci, specialmente nelle feci del digiuno. L'uno dice: dunque si tratta di un' escrezione; l'altro pensa alla possibilità che un secreto venga eliminato nel digiuno per la via intestinale, e considera perciò questi grani delle feci come secreto sovrabbondante, che non serve quando l'animale non mangia, che, non venendo impiegato, viene eliminato. Vero è che nei Cefalopodi accade qualche cosa di simile. Ma in essi le forme che, come dirò, io pure ho interpretato come forme secretive, si trovano nelle feci soltanto nel digiuno. Invece per i grani dell' *Aplysia*, non solo la eliminazione per le feci avviene anche non nel digiuno, ma anzi nel digiuno è scarsissima, abundantissima al contrario dopo i pasti, non subito, ma quando la digestione è un poco inoltrata. Quest'osservazione, così facile a farsi quando non ci si limiti a studiare il solo fegato, avrebbe salvato il FRENZEL da quella sua interpretazione. E poi: come mai, se è vero che questi grani sono secreto e che il secreto si forma ugualmente nel fegato durante il digiuno, tanto da venire eliminato per sovrabbondanza, come mai accade invece proprio il contrario, vale a dire coll' aumentare della durata del digiuno i grani stessi vanno diminuendo fino a sparire, dentro le cellule epatiche? La formazione di secreto nel digiuno la riscontreremo, sì, tra breve, per altre forme, in altre cellule. Avremo in esse uno straordinario aumento di gocce nel digiuno, tanto che in un animale digiuno esse sono la prima cosa che si vede, in uno ben nutrito, dopo un pasto abbondante, quelle stesse forme si devono ricercare con fatica per trovarne poche. Ma a proposito dei grani bruni succede il fatto diametralmente opposto. Ed è strano che il FRENZEL, il quale dice di avere osservato Aplisie dopo lungo digiuno, non se ne sia accorto. Quanto all' opinione di BARFURTH, è vero che i grani bruni si trovano nelle feci, nelle quali vanno diminuendo lentamente nel digiuno, come farebbe un escreto. Ma essi si trovano abundantissimi nell' ingluvie, e vi rimangono anche a lungo nel

digiuno, caratteri che difficilmente potrebbero essere posseduti da un' escrezione epatica. A parte queste considerazioni vi sono vari fatti che dimostrano la derivazione diretta dei grani bruni dalle cellule vegetali, direttamente nell' ingluvie: gli stadii di passaggio tra cellule verdi, pezzi di esse e grani bruni; il fatto che i grani bruni dell' ingluvie si trovano per la massima parte non liberi, ma addossati a resti delle pareti cellulosiche, o spesso (la cosa non è proprio dimostrabile coll' osservazione, ma si riceve questa impressione) proprio dentro cellule alterate; il fatto che il succo gastrico deve imbrunire la clorofilla dell' *Uva* nell' ingluvie, come fa di quella delle Diatomee, sulla cui identificazione, come sopra ho notato, non è possibile prendere abbagli, e non vi sono nell' ingluvie altre forme brune oltre questi grani di cui vado discutendo. Nè nella lunga serie delle mie ricerche — esperienze ed osservazioni — o anche nel leggere i lavori dei precedenti autori, vagliandone i risultati, salvo i casi in cui questi erano errati, mi sono mai imbattuto in un solo fatto, in un solo dato, istologico o sperimentale, il quale contraddicesse alla ipotesi dell' assorbimento di questi grani, o solamente richiedesse uno sforzo di interpretazione per accordarsi con quella supposizione. Altre questioni relative ad altre cellule del fegato lasceranno, come vedremo, ancora dei dubbii. Ma questa io la ritengo dimostrata nel modo più indiscutibile.

Io non starò a discutere particolarmente tutto ciò che dice il FRENZEL, giacchè i dati particolari relativi alle tante specie che ha preso in esame, non sono di mia competenza; nè hanno un grande interesse. Tanto più che egli dà evidenti prove nelle Aplisie (e queste sono tra gli animali che ha più studiato) di esser stato altrettanto incompleto quanto particolareggiato nelle descrizioni e nelle osservazioni. Ed incorre anche in errori veramente curiosi. Per esempio egli descrive e parla continuamente di »Körnerballen«, intendendo con questo che i grani bruni non siano sparsi liberamente nelle cellule, ma raccolti e racchiusi in una specie di capsula o qualche cosa di simile. Ora, questo fatto è del tutto insussistente. Dal concetto dell' assorbimento dei grani dal di fuori, gradualmente e belli e formati, risulta già quasi a priori che l'affermazione del FRENZEL è inesatta. Ma si osservino le mie figure, che rappresentano quasi il cammino che percorrono i grani, si veda come essi si trovano sparsi per tutta la cellula, e, quando ve ne sono pochi, disseminati, senza nulla che li racchiuda riunendoli in un gruppo. L'errore del FRENZEL deriva da una falsa interpretazione delle cellule contratte. Quando esse,

contraendosi, divengono sferiche, spesso spezzandosi e formando più di una sfera, questi globi contenenti i grani corrispondono perfettamente al concetto dei Körnerballen; ed infatti egli disegna dei Körnerballen derivati »aus« una Körnerzelle, che non sono altro, evidentemente, che una di queste cellule contratta, o una sua parte, come è quella che è rappresentata dalla mia Fig. 60, troppo piccola per essere una cellula intera. Ma, quello che è addirittura curiosissimo, è che egli stesso nella tavola a colori dello stesso lavoro (la 1^a parte della monografia), disegna una »kugelig gewordene« Körnerzelle di *Capsa fragilis* (sua Fig. 10) la quale, salvo l'aspetto un po' diverso dei grani, è del tutto uguale a un Körnerballen di *Aplysia* (Fig. 6)! E così ancora altre volte. La differenza è questa, che nella »kugelig gewordene Körnerzelle« disegna il nucleo, nel Ballen no. Ma forse che il nucleo non può rimaner nascosto da tutti quei fitti grani? E si noti che nei suoi Ballen sono un poco più fitti e pressati. Ma siccome egli non ha veduto a fresco una Körnerzelle non contratta, non ha potuto accorgersi quale realmente fosse la disposizione dei grani. Nei preparati, ove sono scoloriti, ma pur visibili, anche si può accorgersi che non esiste traccia di Körnerballen; nè vi è bisogno che siano eccessivamente buoni per questo scopo. Onde assolutamente non si capisce come egli sia caduto in questo errore. Mi si perdoni questa digressione di natura polemica, ma siccome il lungo lavoro del FRENZEL può apparire a prima vista, per le descrizioni particolareggiate e minuziose, molto accurato e tale da destare fiducia, occupandomi dello stesso argomento ed avendo ottenuto risultati diversi, mi è necessario dimostrare almeno con qualche esempio, che è del tutto l'opposto. Un altro risultato del FRENZEL che non posso affatto confermare è, che i grani bruni siano tingibili da molti colori, quali l'emallume, il carmino ecc.; disciolto il pigmento con alcool e portato via, non più. Giacchè, come dimostrerò a proposito della *Plenrobranchaca Meckelii*, egli ha confuso colle Körnerzellen delle Aplisie, cellule secernenti di questo animale, che non hanno niente a che fare colle Körnerzellen, e queste cellule secernenti, le quali si trovano anche nell' *Aplysia* (ove egli non le ha descritte in questo stadio) hanno delle gocce che si possono tingere con i colori nucleari, ho tutto il diritto di credere che, quando egli parla di Körnerzellen i cui grani si sono tinti con tali colori, si tratti invece di tali cellule. Se egli queste colorazioni le avesse fatte con Körnerzellen allo stato naturale, non potrei avere tale sospetto, perchè la loro forma è assai

caratteristica per distinguerla. Ma egli Körnerzellen allo stato naturale non ne ha vedute, giacchè neppure una ne ha disegnata. Onde deve aver fatte le reazioni su quei frammenti indecifrabili che a me pure si presentavano unici nell' esame del fegato, durante le prime osservazioni. Questi frammenti indecifrabili sono per lo più Körnerzellen o loro parti, arrotondate, ma vi son misti aggregati di gocce di secreto, e questo avviene specialmente negli animali a digiuno, quando le Körnerzellen diminuiscono e le gocce di secreto aumentano. Io ho tentato invano di colorare i grani bruni. Per queste prove mi sono servito di sezioni di pezzi immersi in gommasciroppo senz' altro ed ivi inclusi, secondo il metodo descritto nella parte tecnica. Questi preparati, non buoni istologicamente, si prestano però molto bene per simili ed altre ricerche microchimiche (in tutti quei casi in cui non si tratti di ricercare corpi solubili nell'acqua), perchè le sostanze del tessuto non sono affatto alterate dal processo di preparazione. In queste sezioni le altre cellule si colorano, le Körnerzellen piene di grani restano del colore bruno ed i grani immutati. Invece una certa colorazione dei grani la ho avuta qualche volta nelle sezioni di pezzi fissati in sublimato acetico (solita formula) ed inclusi in paraffina. La colorazione non è omogenea, e vi sono dei grani coloriti e di quelli che non lo sono. Veggasi la Fig. 117; i grani appaiono con un contorno scuro e una colorazione molto più debole, che, nella figura, sembra colorazione generale di tutto il grano; e così anche appare nel vero, a prima vista; ma fochettando diligentemente ci si persuade che questa apparenza è dovuta al fatto che il colore ha tinto tutta la periferia del grano e non l'interno.

Quanto all' interpretazione di questo fatto, per prima cosa, rimane escluso che la colorabilità dipenda dalla sostanza verde-bruna (clorofilla) dei grani, perchè nelle mie esperienze grani ancora pigmentati non si son tinti, e grani non più pigmentati si sono tinti. Nè si può dire l'opposto, che la clorofilla impedisca la colorazione, perchè anche sui grani scoloriti la colorabilità è tutt' altro che costante, anche nello stesso preparato. Ma tenendo conto del fatto che la colorazione è più periferica e interstiziale che altro, e che spesso oltre la colorazione di quei globetti, si osserva una colorazione irregolare, in seno al protoplasma, in forma di piccoli trattetti lineari, l'ipotesi più probabile è che la sostanza che si tinge non sia appartenente ai grani, ma al protoplasma della cellula, e si tratti di enzimi o sostanze affini, dei quali deve bene esserne

dentro alla cellula, la quale ha la proprietà di distruggere in seno a sè stessa i grani. Ed è noto come spesso i fermenti si tingano coi colori nucleari. Che qualche volta i grani si tingano e qualche altra no, senza legame coll' esistenza della clorofilla, non apparisce strano con questa ipotesi: giacchè non tutti i fegati sono nello stesso stadio di digestione endocellulare, e nemmeno è necessario che lo siano tutte le cellule di un fegato o tutti i grani di una cellula. Cosicchè, senza dare un valore troppo positivo a questa supposizione, io ritengo però che essa possa essere nel vero¹.

Nelle sezioni di pezzi inclusi in paraffina, le cellule clorofilliche perdono dunque il caratteristico loro aspetto, quello che mi ha guidato nella ricerca, dovuto ai grani pigmentati. Nè si può distinguere una speciale struttura del protoplasma, il quale appare un po' irregolarmente granuloso. Con un esame diligente si può vedere, nonostante la mancanza del pigmento, se i grani vi sono o no, anche quando non si tingono. Ma non è mai un risultato molto sicuro, nè così istruttivo come nell' esame a fresco.

Il nucleo è sempre presso alla base della cellula; la forma generale di essa è allungata, ma non si riesce facilmente a vedere elementi così appuntati come capita di osservare nell' esame a fresco. Un principio di contrazione è dunque frutto inevitabile dei reagenti, in questi elementi così delicati (v. le Fig. 116 e 117).

Ma per quale meccanismo avviene l'ingresso dei cloroplasti e dei grani bruni nelle cellule epatiche? Vedere in azione questo processo non mi è mai riuscito, e vano sarebbe il pretendere di riuscirci. Giacchè, come ho più volte ripetuto, tutte le cellule del fegato, quando si dilacera cogli aghi o con qualunque altra tecnica, si alterano con grandissima facilità, si rompono, si contraggono. Vedere una cellula assorbente isolata e perfettamente normale è raro, e tanto più quanto più la cellula è vuota di grani e in via di riempirsi; proprio cioè nel momento che sarebbe il più opportuno per sperare di potervi vedere entrare dei grani. Nè si può pretendere di vedere entrare dei grani in una cellula la cui superficie ha cominciato, sia pur poco, a contrarsi. E poi, quando si isola una cellula dalle compagne, bisogna che tutto ciò che si vede nel campo

¹ Potrebbe anche darsi che si tratti di resti di nuclei vegetali, assorbiti come le altre parti della cellule dell' *Ulva*. La questione sarebbe interessante, ma non ho potuto raccogliere dati in proposito.

del microscopio sia molto rado, onde è ben difficile che dei grani si trovino proprio accanto alla cellula, nelle condizioni favorevoli all' assorbimento. E d'altra parte, se si osservano cellule non bene isolate, o gruppi di cellule, per l'intensità della pigmentazione non si può riuscire a discernere niente.

Dobbiamo perciò procedere per via di induzioni, basandoci su quelle proprietà delle cellule in questione, che sono facilmente riconoscibili. Osservo in primo luogo che può sembrare a prima vista che queste cellule abbiano una membranella assai netta, ma che tale apparenza è errata. Sembra ciò specialmente quando si vedono scorrere le cellule per stretti canali artificialmente prodotti in seno al tessuto epatico frantumato e maltrattato dalla tecnica d'osservazione, ciò che accade assai di frequente, spesso corrispondendo essi a veri canalini epatici. Le cellule si allungano, per poter passare, e, passate, si contraggono di nuovo un po', e sembra di vedere una membranella elastica contenente un liquido perfettamente mobile. Su per giù come avverrebbe, se potesse una bolla di sapone, senza rompersi, passare per uno stretto canale, allungandosi. Ma, appunto come una bolla di sapone, appena la cellula si rompe, dividendosi in due o più parti, in ciascuna parte si ricostituisce alla superficie una membranella di uguale natura, assumendo ciascuna parte la forma sferica. È evidente che si tratta qua di fenomeni di tensione superficiale, puri e semplici. La membranella della cellula normale non è che lo strato superficiale del contenuto della cellula, molto fluido, e fornito di una tensione superficiale superiore a quella del liquido ambiente. Ma perchè, anche se si manovra con delicatezza, raramente accade di vedere forme sferiche derivate da queste cellule, le quali per la grandezza loro possano far supporre di essere derivate da una intera cellula, non spezzata, ma semplicemente contratta? Anzi, quando si riesce ad isolare una cellula senza che si rompa, anche osservata a lungo essa si contrae in generale poco, arrotondando un po' gli estremi, e se produce forme sferiche, ne produce più di una, dividendosi. Nè ho veduto mai due forme sferiche vicine fondersi in una sola sfera più grande. Tutti questi fenomeni possono dipendere da proprietà speciali delle cellule, ma giacchè in esse, il cui contenuto è prevalentemente liquido e molto scorrevole, i fenomeni della tensione superficiale sembrano avere grande importanza, mi pare che il ricercarne la causa in questi stessi fenomeni sia perfettamente giustificato. Tanto più che le proprietà di queste cellule, considerate

come gocce immerse in seno a un liquido differente, sono perfettamente quelle stesse che presentano gocce di liquido in certe condizioni; si ponga un poco di toluolo in cui sia sciolto qualche pigmento, p. e. clorofilla, in forma di goccia sull' acqua; gli si avvicini un pezzettino di grasso pure galleggiante, p. e. una gocciolina di olio d'oliva; si vedrà la goccia di toluolo un poco allungarsi verso l'olio, il quale, appena stabilitosi il contatto, subito vi penetra fino nel centro, e si discioglie lentamente. Ma io voglio ancora insistere sul fatto della completa mollezza di queste cellule, del contenuto loro molto liquido e molto scorrevole, della membranella esterna dovuta esclusivamente alle proprietà della tensione superficiale. Tutte condizioni le quali permettono il paragone con gocce liquide non vive, senza restrizioni. Questo paragone appare anche più lecito quando si faccia una considerazione: che non potrebbero subito divenire sferiche queste cellule, appena isolate, se vi fosse in esse una trama solida o semisolida, un reticolo protoplasmatico di una certa consistenza; bisogna al contrario che tutto il protoplasma sia quasi perfettamente liquido. Non appaia dunque strano se queste cellule presentano e così abbondante e ricco il fenomeno di assorbimento dei grani che abbiamo descritto.

I grani entrano dunque nelle cellule per le loro proprietà fisiche. Non si possono vedere nelle nostre cellule gli abbondanti e lunghi pseudopodi delle amebe, ma qualche pseudopode ho potuto osservarlo qualche volta (Fig. 57); ma per lo più credo che non se ne formino, o ben poco accentuati; nè la presenza di veri pseudopodi è necessaria per un assorbimento di grani dovuto a fenomeni di tensione superficiale, come avviene nel caso citato della goccia di toluolo.

Io ho parlato di assorbimento di grani per parte del fegato, e già altri prima di me hanno parlato di assorbimento di sostanze liquide (glicogeno — ossia, sostanze capaci di formarlo — e grasso). Quale significato ha questo assorbimento — questo processo che è stato indicato collo stesso nome che è dato a un fenomeno il quale avviene nel canale digerente di tutti gli animali o quasi? È necessario distinguere i due fenomeni, giacchè sono molto diversi. Quando un cane si alimenta con grasso, e poi questo grasso si ritrova nel dotto toracico, o con qualunque sostanza che, nella stessa forma anche alterata, si ritrova nel sistema linfatico o nel sangue, la parete dell' intestino ha avuto un ufficio, che può essere per così

dire difficile dal punto di vista della permeabilità, ma che è, nel fatto molto semplice: si è lasciata traversare dalla sostanza in questione, e, se la ha trasformata, si tratta sempre probabilmente di processi chimici non complicati, forse polimerizzazione, dovuti a disidratazione o simili. Ulteriori trasformazioni delle sostanze così assorbite, cioè passate in circolo, vengono fatte forse in seno al sangue, certamente dai varii organi ghiandolari dell' organismo, le cui cellule operano un nuovo assorbimento delle sostanze in circolo, passando queste attraverso alla parete dei capillari sanguigni e alla parete delle cellule stesse, per penetrare in esse. Tale è, per esempio, il destino di quei grassi e di quegli idrati di carbonio che come grassi o come glicogeno si trovano poi nel fegato degli animali superiori.

Nei Gasteropodi il processo di assorbimento per parte del fegato ha un significato, per così dire, più sintetico. Giacchè il fegato è nello stesso tempo organo di assorbimento e organo ghiandolare (da paragonarsi al fegato degli animali superiori, e insieme al pancreas ecc.). Le funzioni di questi organi, se esistono nei Gasteropodi, sono certamente esercitate dal fegato, che ne è quasi l'unico organo ghiandolare. L'assorbimento epatico dei Gasteropodi non è passaggio attraverso a uno strato di cellule, come l'assorbimento intestinale negli altri animali. Almeno, un assorbimento di tal genere con diretto passaggio nel sangue, nessuno lo ha dimostrato e nemmeno supposto. L'assorbimento epatico corrisponde di più, per la natura del fenomeno, all' assorbimento dal sangue delle cellule ghiandolari degli animali in genere. Ma siccome anzichè dal sangue avviene direttamente dal contenuto del canale digerente, è un processo abbreviato, sintetico, che con un semplice passaggio attraverso alla parete esterna di una cellula, colla penetrazione dal di fuori al di dentro di essa, riassume procedimenti molteplici che si verificano in altri animali, e forse, in parte, anche in questi stessi.

Ed infatti, il glicogeno ed il grasso che si trovano nelle cellule del fegato, e che probabilmente derivano direttamente dal contenuto del canale digerente (per quanto dimostrato in modo indiscutibile non sia) vi rimangono come sostanze di riserva, nello stesso modo che negli altri animali negli organi ghiandolari. Lo stesso accade delle sostanze calcaree (*Helix*). E, più che per queste sostanze, il significato complesso dell' assorbimento epatico, quale vado illustrando, è dimostrato chiaramente per i cloroplasti e i grani bruni. Nelle cellule epatiche infatti lentamente la clorofilla si altera, cambiando di colore e poi scolorandosi, e le altre sostanze del cloroplasto e

del grano bruno anche devon venire necessariamente consumate, giacchè dentro le cellule dopo un certo tempo non ci è più traccia nè di grani bruni, nè di cloroplasti (i quali, anche quando sono scoloriti, sono riconoscibili) e le loro trasformazioni incolore non si trovano nelle feci. Ora, se si pensa che il cloroplasto ed anche il grano bruno rappresentano parti di cellule vegetali che sono state alterate punto o poco dalla digestione nel canale digerente, si vede quanto complessa deve essere la funzione chimica delle cellule del fegato sopra a questi materiali. Una digestione endocellulare è necessario ammetterla, la quale verrebbe operata dai succhi endocellulari senza formazione di vacuoli digerenti come avviene negli organismi unicellulari. Ma ciò non è una difficoltà, giacchè non è necessario che un processo si svolga ovunque perfettamente nello stesso modo. Tanto più che vi sono dei fatti i quali possono spiegare la ragione della differenza. Nei Protozoi la digestione endocellulare è acida, anzi deve essere potentemente acida, visto che (io stesso ho fatto questa osservazione) la clorofilla delle alghe ingerite, nelle Vorticelle, imbrunisce in modo molto intenso; l'acidità pare che sia una condizione necessaria alla digestione, visto che tutti gli animali hanno dei succhi digerenti acidi; ma questa necessità, come è noto, non deriva dalla impossibilità che una digestione si operi con reazione alcalina, giacchè molti succhi digerenti, e, nell'uomo, il secreto pancreatico che è più attivo del secreto gastrico, esplicano la loro azione quando la reazione è alcalina; questa necessità di un secreto acido deriva probabilmente dal bisogno di impedire lo sviluppo dei microrganismi. Ora, l'Infusorio, che digerisce soltanto dentro la cellula, ha bisogno di avere là il secreto acido; e questo acido è anche necessario che sia isolato dal protoplasma per non danneggiarlo ed ucciderlo; onde la necessità del vacuolo. Qua nell'*Aplysia*, gli alimenti, già disinfettati nell'ingluvie, si trovano nelle condizioni in cui sono nell'uomo quando, subita l'azione del succo gastrico, passano nell'intestino e vengono digeriti in reazione alcalina; può esser benissimo che la digestione endocellulare nel fegato dell'*Aplysia* avvenga con reazione alcalina, anzi ciò è probabile; e non deve meravigliar più, data questa possibilità, la digestione senza un vero vacuolo digerente, perchè la necessità di esso è tolta colla mancata acidità, la digestione può compiersi impunemente in mezzo al protoplasma.

Riprendendo il discorso, una digestione endocellulare è necessario ammetterla nelle nostre cellule assorbenti. Nè probabilmente

l'azione delle cellule si limita a produrre dai composti alimentari composti più semplici, di digestione, i quali vengano utilizzati e trasformati da altre cellule di nuovo in composti più complessi, proprii della vita animale dei Gasteropodi stessi. Non è inverosimile che queste medesime cellule operino qualche cosa in questo stesso senso, giacchè esse formano la parte quantitativamente più importante degli organi ghiandolari dei Gasteropodi. Chè se la nostra ipotesi relativa alle cellule sferulose — che esse siano essenzialmente legate al metabolismo degli idrati di carbonio — è vera, tutto ciò sarebbe ancora meglio lumeggiato da questa particolare divisione di lavoro tra le cellule sferulose e le assorbenti clorofilliche. Infatti, gli idrati di carbonio (amido) che vengono digeriti rapidamente in seno al canale digerente, non verrebbero assorbiti dalle cellule clorofilliche. In conferma di questa ipotesi sta anche il fatto che, quando queste cellule sono piene di cloroplasti e grani bruni, come sempre avviene dopo pasti abbondanti, non vi è più posto per altro, e appena rimane la possibilità che esistano ancora tra i vari grani i sottili reticolati protoplasmatici proprii della cellula. D'altra parte, lo zucchero che si trova abbondante nel fegato, da qualche cellula (direttamente o indirettamente — ma probabilmente direttamente) deve essere certamente assorbito. Nè, si badi bene, questo zucchero può trovarsi soltanto dentro i grani bruni. Esso infatti nel canale digerente esiste sciolto nella parte liquida (v. già le ricerche di CLAUDE BERNARD, 53).

Riferisco qui alcune osservazioni sulla *Limnaea stagnalis*, della quale non tratto in modo particolare nel presente lavoro. Ma esse sono di notevole importanza nello studio di questi fatti, perchè dentro alle cellule del fegato di questo animale, io ho potuto constatare qualche volta con certezza l'esistenza di cellule vegetali rotonde, integre, perfettamente simili a quelle contenute nell'ingluvie; cellule vegetali intiere che qualche volta erano ancora verdi e con i cloroplasti ben conservati. Più spesso i cloroplasti sono alterati, avendo dato luogo alla formazione di minuti e fitti granuli bruni.

6. Fegato (segue) — Cellule secernenti a grosse gocce.

Le cellule secernenti a grosse gocce (incomincio da queste) offrono nelle Aplisie alcuni caratteri molto costanti, altri invece molto

variabili. È costante la loro posizione (v. pag. 306) e il fatto di contenere nel loro interno delle gocce pigmentate di color verde o giallo-bruno, colori che ricordano perfettamente quelli della clorofilla naturale od acidificata. Ma siccome i pigmenti delle cellule secernenti sono insolubili in alcool ed etere ecc., la somiglianza è solo apparente. Non sono pigmenti clorofillici. Lo dimostra anche il fatto che gli stessi (o simili) pigmenti si trovano in cellule, che dimostreremo omologhe, di animali carnivori che non hanno quasi mai clorofilla nel fegato (*Pleurobranchaea* ecc.).

Del resto, la forma delle gocce e la loro struttura e grandezza, il loro colorito, la loro abbondanza è soggetta a variazioni notevolissime nelle varie condizioni della nutrizione.

La forma generale della cellula è per lo più poco o punto allungata, a contorno irregolare; v. p. e. la Fig. 118; questa è tolta da una sezione di pezzo fissato in sublimato e incluso in paraffina. Il colore delle gocce non è al naturale, perchè esse si sono un poco seccate colla tionina, la quale ho adoperato per colorire il preparato. Il nucleo si tinge assai intensamente e mostra una struttura caratteristica. Si tinge, colla tionina, la membrana nucleare, il nucleolo, che mostra di esser composto come di quattro pallottoline riunite, e delle granulazioni di cromatina sparse nel plasma nucleare, che spiecano notevolmente sul fondo, tinto in rosa dall' eosina. La sostanza cromatica è dunque diffusa, spezzettata. Una zona protoplasmatica contorna la grossa goccia, zona trasparente, scolorita. La goccia, anzi l'insieme di molte gocce (come mostra la figura) è separata dal protoplasma, raccolta in una parte di esso. Questo insieme è ciò che FRENZEL ha chiamato Fermentballen, e che io chiamerò massa di secreto. Ma non tutte le cellule secernenti son così costituite; molte, che sono evidentemente in uno stadio diverso, hanno le gocce sparse nel protoplasma, senza che esista una massa di secreto, con una zona protoplasmatica esterna distinta. V. le Fig. 119 e 120 che rappresentano la stessa cellula in due sezioni contigue. Il nucleo è misto colle gocce seure. Anche questi Fermentballen di FRENZEL vanno dunque accettati con riserva.

Per intenderci riguardo alle denominazioni, chiamo dunque masse di secreto quei radunamenti di gocce che si trovano dentro le cellule secernenti, gocce di secreto quelle gocce di vario colore che si trovano in varie posizioni, sia dentro alle cellule, sia fuori. E, più precisamente, quelle situate come nella Fig. 75, a guisa di rete tra cellule di altra natura, chiamo gocce interstiziali.

Cominciamo a vedere, con qualche esempio, in quali condizioni queste masse di secreto si trovino più o meno abbondanti.

Aplysia depilans VIII. — Arrivata ieri dal mare. Ieri emetteva feci verdi, stamattina feci bruni, con grani bruni. A ore 9 le si dà da mangiare; essa continua il pasto fino verso le 14; alle 15 1/2 si prende ed osserva. Contenuto intestinale: feci verdissime, di un colore molto più intenso che quello dell' *Uva*, tanto scuro quanto una soluzione di clorofilla molto densa; vi sono misti pochi grani bruni. Contenuto gastrico pure verde. Nel fegato, cellule clorofilliche quasi tutte verdi in alcune parti dell' organo, in altre anche un poco marroni. Le masse di secreto sono scarsissime e molto scolorite. La loro scarsezza è proprio notevolissima; bisogna cercare molto attentamente per trovarne una, a fatica. Gocce di secreto poche, piccole, assai gialline.

Quest' animale era in condizioni di nutrizione assai caratteristiche: era arrivato dal mare non molto dopo un pasto, probabilmente anche assai abbondante, come lo dimostra il fatto dell' emissione delle feci verdi. E già subito la mattina dopo, le feci nuove emesse erano molto cambiate di colore, molto brune; ciò indica che la digestione era proceduta attiva e rapida.

Aplysia limacina VI a digiuno da 10 giorni (v. pag. 334). Tutto il fegato è pienissimo di masse di secreto, scurissime, fino al nero. Se ne contano fino a 12 e più, nel campo dell' obbiettivo semiapocromatico $\frac{1}{15}$ a imm., ocul. 4. Gocce di secreto abbondanti, a formare quella rete simile a quella disegnata nella Fig. 75.

Aplysia limitans V — a digiuno da 11 giorni (v. pag. 334). Masse di secreto ugualmente abbondanti.

Potrei riferire molti altri esempi, i quali tutti confermerebbero questo fatto, che le masse di secreto sono abbondantissime dopo il digiuno, specialmente dopo un lungo digiuno. Molto più scarse in condizioni normali. Questo tanto nella *depilans* quanto nella *limacina*. Specialmente nella *depilans* poi, vi sono delle condizioni speciali in cui si riducono a pochissime. (V. l'esempio sopra citato.)

Aplysia limacina IX — a digiuno da 13 giorni, e poi a mangiare per due giorni. Cellule clorofilliche con qualche grano. Masse nere abbondanti, ma molto meno che nelle due Aplisie ultime citate.

Vediamo, con questo animale, di nuovo diminuire le masse di secreto col pasto, dopo un lungo digiuno. Anche l'Aplisia VI aveva

mangiato (v. pag. 334) dopo il digiuno, ma da troppo poco tempo perchè si avesse un effetto sensibile.

Escluse le due ipotesi che queste masse siano un prodotto di assorbimento — infatti esse spariscono coll' alimentazione e appaiono col digiuno, specialmente di lunga durata — o che siano forme escretive — esse infatti non si trovano mai nelle feci (tranne eccezioni rarissime, casualmente, e, in ogni caso, non si potrebbe capire come mai si accumulassero in tal quantità col digiuno e venissero eliminate dopo l'alimentazione) — escluse queste due ipotesi resta più facile il compito di dimostrare che esse rappresentino realmente un secreto attivo nella digestione. Intanto, è evidente che son formate di un materiale il quale si consuma tanto più quanto più l'animale mangia. Ed interessante è a questo proposito il primo esempio riportato, in cui si trattava di un animale che, dopo una attiva digestione e un nuovo abbondante e lungo pasto, non aveva quasi più di quelle masse. Ora, giacchè sappiamo che il fegato è una ghiandola digerente, che secerne dei fermenti con azione digestiva, e questo fermento o i suoi antecedenti devono evidentemente soddisfare alle condizioni di consumarsi nella digestione, riformandosi poi nel corso del digiuno, l'identificare quelle masse, le quali soddisfano a quelle condizioni, con questi fermenti, non è davvero cosa azzardata. Ma altri argomenti appoggiano questa ipotesi. Come è noto, il contenuto gastrico delle *Aplisie* è sempre acido. Ora, l'estratto epatico in acqua distillata, che è normalmente alcalino (BOTTAZZI, 01), se viene fatto in un animale dopo lungo digiuno, è acido. Questo fatto prova da un lato che l'acidità del contenuto gastrico è dovuta almeno in parte al secreto epatico. Ma d'altro lato, si osservi anche questa coincidenza, che l'estratto è acido proprio quando le così dette masse di secreto sono abbondantissime. Tutti questi fatti vanno perfettamente d'accordo tra di loro, ritenendo che queste masse rappresentino un secreto del fegato, secreto acido, e quindi acide le masse e tutto l'estratto epatico quando esse sono abbondantissime; mentre nelle altre condizioni prevalgono gli altri succhi cellulari, alcalini.

Di più, anticipando qualche notizia, osserviamo quello che accade nella *Pleurobranchaea Meckelii* e nei Cefalopodi. Tanto nell' una quanto negli altri non si nota un considerevole aumento di quelle masse pigmentate che dimostreremo essere omologhe a queste masse di secreto, dopo il digiuno. Ma nei Cefalopodi molte di quelle masse vengono eliminate per l'intestino; eliminazione che non avviene

per nulla in condizioni normali, e che si verifica a causa del digiuno. Nella *Pleurobranchaea* esse non vengono eliminate, ma in quella parte dell' intestino che corrisponde alla camera epatica e al cieco dell' *Aplisia*, si trova negli animali a digiuno un liquido assai denso, fortemente acido e molto pigmentato, abbondantemente raccolto. In esso generalmente non si riscontrano grani o gocce, al microscopio, ma la sua colorazione ne mostra i rapporti intimi con le masse pigmentate del fegato, giacchè il colore è lo stesso. Queste diverse conseguenze del digiuno in animali diversi, sopra le masse pigmentate — che dimostreremo omologhe per i loro caratteri strutturali, per il modo di formazione ecc. — sono quanto mai significative. Giacchè tutte queste conseguenze vanno d'accordo coll'ipotesi che le masse pigmentate siano masse di secreto, anzi di fermento digerente, secreto dal fegato.

Non so quanta certezza di significato abbia l'annerimento con ac. osmico, come caratteristica dei fermenti (NUSSBAUM). Ma questa reazione qua si verifica e risulta evidente in molti miei preparati fissati con miscele osmiche. Devo aggiungere che la tionina colora queste masse, a differenza della maggior parte delle ordinarie sostanze coloranti. Dunque, se le reazioni dei fermenti non sono sicure, sta però il fatto che queste masse almeno non contraddicono a quelle che si suppongono proprietà caratteristiche dei fermenti.

Che queste masse siano fermenti secreti dal fegato e pronti ad essere utilizzati, io lo ritengo dunque sicuro. Ma nel descriverne il modo d'origine e di distruzione, questi stessi processi ne saranno nuova conferma.

Ecco come essi si posson ricostruire.

Abbiamo visto già che alcune di queste cellule hanno il nucleo appartato, e tutta la massa pigmentata raccolta in un insieme; questa forma anzi è la più comune, ed anche tutte le volte che, senza vedere il nucleo, ho disegnato solo una massa di secreto, fuoruscita dalla cellula, ma integra e completa come p. e. quella della Fig. 85, è da ritenere che si tratti di questo caso. Qualche altra volta invece, il nucleo è immerso in quella sostanza più pallida in cui sono immerse anche le gocce. Osserviamo ancora che quell' alone più chiaro che circonda la massa scurissima di secreto (p. e. Fig. 75) non è costante, ma anzi è per lo più mancante (Fig. 77 — 79 ecc.). Nelle *Aplisie* tenute molto lungamente a digiuno l'alone non c'è, per lo più. Siccome col digiuno queste masse aumentano, vanno formandosi, e non distruggendosi, di questi stadii che appaiono

essere consecutivi, questo della massa scura senza alone, con nucleo appartato, è probabilmente l'ultimo, e tutto il processo si compie in questo modo e in questo senso. In seno al protoplasma comincia a formarsi del pigmento diffuso (Fig. 120, 69) che, come un'osservazione molto accurata coi più forti ingrandimenti fa intravedere, è sparso a guisa di minutissime goccioline riempienti tutta la cellula. Tali goccioline si addensano in una massa isolata, ed in parte si modificano, riunendosi a formare gocce più grosse, sempre più grosse, che appaiono più scure appunto per le loro dimensioni maggiori. Si vedono diverse grandezze di goccioline nell'interno della massa che si trova nella Fig. 118. Queste gocce grosse confluiscono del tutto, dando luogo a un'unica massa (p. e. Fig. 77), assorbendo a poco a poco tutte le minutissime gocce della zona esterna. Le osservazioni sulla *Pleurobranchaea* confermeranno questo procedimento.

Per ricercare le forme di disfaccimento delle masse, dobbiamo ricorrere agli animali in quelle condizioni di nutrizione nelle quali abbiamo riscontrato una progressiva diminuzione delle masse stesse; vale a dire dopo il pasto, durante la digestione. Lo stadio culminante, in cui esiste questa massa di secreto isolata nella cellula e senza colore più chiaro, lo chiamerò stadio della riserva di secreto.

Ricordo dapprima una *Aplysia depilans* (X) freschissima, con contenuto gastrico molto abbondante e verde, dalla quale sono tolte le Fig. 76 e 89. — Si osservi la Fig. 76, e si ponga attenzione a quell'ammasso di piccole gocce, che insieme a una grossa massa di secreto sono contenute in una stessa cellula; almeno così appariva all'esame a fresco, nell'osservare quell'elemento che era completamente isolato. Di queste gocce, che ho, in varie intonazioni di colore, rappresentate in molte figure, è facile dimostrare l'origine dalle masse di secreto. In questo animale, che era in stato di digestione non ancora avanzata, moltissime delle masse di secreto, anziché di forma regolare, si mostrano allungate con una evidente tendenza a dividersi in gocce più piccole. E si può spesso seguire questa divisione sotto il microscopio.

Una massa di secreto molto interessante è disegnata nella Fig. 89. Qui si vede in quel prolungamento sottile una graduale diminuzione nell'intensità del colore, col diminuire della grossezza. E l'estremità si mostra altrettanto chiara e di colore perfettamente simile a quello delle gocce piccole libere, quali sono quelle della Fig. 76. La rifrangenza di questo estremo sottile corrispondeva

pure perfettamente, all' aspetto, a quella delle gocce libere. Tali forme allungate sono artificiali e dovute alla pressione del vetrino, o naturali? Nei preparati di pezzi fissati non si trovano questi aspetti. Ciò però può dipendere dall' azione del fissativo, al cui contatto le gocce allungate si contraggono; poichè nei preparati a fresco non si osservano masse di secreto in quel modo allungate, altro che in speciali condizioni: quando la digestione è attiva e le masse sono scarse, e, per quel che si può indurre, in diminuzione. Negli animali a digiuno non si osservano mai, anche premendo il vetrino assai, a bella posta. E d'altra parte nelle condizioni opportune si osservano, anche curando di premere il meno possibile o di non premere. È dunque molto probabile che esse siano forme naturali e non artificialmente prodotte; ma se anche fosse in questo ultimo modo, resterebbe sempre questo fatto da notare, che le masse di secreto hanno, in quelle particolari condizioni, una grande tendenza a disfarsi, riducendosi in gocce più piccole. Ma questa tendenza si riconosce anche nell' interna struttura delle masse. Giacchè mentre, finito il periodo di formazione, esse non hanno caratteristiche notevoli di struttura, salvo talvolta qualche sferetta interna (si veda p. e. le Fig. 77—79), in queste speciali condizioni, quando l'osservazione del loro numero mostra che vanno diminuendo, gli aspetti loro sono svariatisimi, ma, nella grande varietà, sempre soddisfacendo a un carattere costante, quello cioè di contenere numerose gocce nell' interno o di constare di gocce più o meno grandi, insieme ammucciate. Le Fig. 85 e 90 sono molto significative. La Fig. 91 rappresenta una delle gocce interne di una massa simile alla 90, isolata, perchè fuoriuscita artificialmente dalla massa stessa: si acquista, dal suo aspetto molto più chiaro, ancora una volta il concetto della derivazione delle gocce libere, di colore simile ad esse, dalle grandi masse. Le conseguenze di questa ipotesi, la quale è sufficientemente dimostrata dai varii casi di passaggio citati, sono assai caratteristiche. Ne deriva infatti che quella rete di sferette, rappresentate nella Fig. 75, ha origine dalle grandi masse di secreto, e così pure quelle figurate in posizione uguale nelle figure 104, 106 ecc. — Le forme di passaggio tra queste gocce, che ho chiamato gocce interstiziali, e di cui ne è rappresentate nelle Fig. 92—101, tra queste gocce e quelle che si vedono derivare senza dubbio dalle masse di secreto, dimostrano che esse derivano tutte da queste masse. D'altra parte, la mancanza di ogni rapporto colle cellule sferulose, a cui le gocce inter-

stiziali sono addossate, conferma questa idea. Dentro le sferulose infatti non si trovano nè sferule pigmentate, nè pigmento sparso. Le cellule sferulose possono molte volte sfuggire dal loro posto, nell' esame a fresco, ed allora non mai vi rimane dentro neppure una goccia interstiziale; e l'osservazione dei preparati inclusi in paraffina conferma sempre l'opinione che tali gocce siano appunto interstiziali, e non mai dentro le cellule sferulose. Le gocce possono trovarsi collo stesso colore e la stessa abbondanza attorno cellule che hanno struttura molto diversa (Fig. 75, 104, 106) o vice versa.

Dobbiamo dunque concludere che le masse di secreto si consumano riducendosi in gocce, sia che esse si formino internamente alle masse stesse, sia che le masse si allunghino, assottigliandosi e dividendosi; che le gocce si dispongono negli interstizii delle cellule sferulose. Evidentemente da questa posizione sono poi destinate a dissolversi, andando a far parte del contenuto dei canalini epatici.

Fermiamoci un momento ad esaminare i vari aspetti delle gocce, giacchè presenta un certo interesse. Quello che è evidentemente il più primitivo è rappresentato per esempio nella Fig. 76. Le gocce sembrano proprio pezzetti distaccatisi da una massa allungata simile alla 89. Simili sono quelle della Fig. 105, 106 ecc. Dopo un digiuno breve si trovano ancora di questo aspetto, come mostra appunto la Fig. 105 (3 giorni di digiuno). Ma dopo un lungo digiuno il colore tende più al verdognolo (Fig. 97, 98) ed è più frequente quella forma quasi ad 8, che si incontra però anche nelle gocce gialline. In alcune gocce poi, tra le più grandi specialmente, è notevole una particolare struttura raggiata, con una sferettina più scura nel mezzo (Fig. 98); per esaminare questa struttura bisogna fochettare diligentemente; essa è visibile distinta quando il fuoco è appena di pochissimo innalzato al di sopra del centro della goccia. Se si innalza ancora, la struttura non è più visibile e compare un colore rossastro in una zona anulare, subito interna alla linea nera che, in queste condizioni, limita la goccia; si passa così dalla Fig. 98 alla Fig. 99, nella quale ultima è rappresentata la stessa goccia, come si vede a fuoco più alto. Gli stessi riflessi rossi possono averli anche le gocce a 8. — Tutti questi minuti particolari non sono, a dir vero, molto interessanti, ma è necessario ricordarli, perchè solo così si può stabilire che anche le gocce che appaiono sempre rosse, come la 100, sono senza dubbio della medesima origine, potendovisi anche riconoscere la stessa struttura raggiata, visibile colle stesse precauzioni. Queste gocce di struttura compli-

cata e coi riflessi rossi spariscono assai presto, quando l'animale dopo il digiuno fa un pasto. Per esempio nell' *Aplisia* VII che dopo 11 giorni di digiuno era stata posta a mangiare per qualche ora ed esaminata il giorno dopo, ve ne erano poche rossastre: però ve ne erano ancora. In un' *Aplysia limacina* (XI) tenuta a mangiare per 3 giorni dopo 7 di digiuno, non ve ne erano punte, mentre erano abbondantissime le gocce di colore avana, simili a quelle rappresentate nella Fig. 104. Nel caso della figura si tratta di una *A. depilans* freschissima, in digestione avanzata, ma molto attiva ancora.

Gocce piccole e irregolari di forma si trovano specialmente quando tra le cellule sferulose ve ne sono scarse e rade, evidentemente le ultime rimaste dopo un' ampia provvista (Fig. 109); ciò dimostrano le condizioni dell' animale; si trattava, nel caso di questa figura, della stessa *Aplysia depilans* VIII, la quale vedemmo a pag. 347 che aveva consumato tutte, o quasi, le masse di secreto; le gocce erano pure scarse, dunque, siccome le masse di secreto si consumano passando attraverso allo stadio di gocce, e negli animali a digiuno anche le gocce sono abbondanti, è evidente che queste poche rappresentavano un ultimo resto.

È notevole un fatto, il quale mi aveva dapprima dato molto a pensare. A differenza dalle masse di secreto che si trovano molto abbondanti nel digiuno e poi vanno gradualmente diminuendo, le gocce quanto al loro numero non presentano affatto una simile regolarità di comportamento. Per riferirsi agli esempi già citati, si osservi in quale abbondanza si trovino le gocce (avana) nella Fig. 104. Quest' animale aveva invece piuttosto scarse le masse di secreto, delle quali se ne trovavano molte solo in parti speciali del fegato, in quelle espansioni dendritiche con cui esso ricopre parte della ghiandola ermafrodita. Orbene, qui si tratta di un animale abbondantissimamente nutrito e in avanzata digestione. Nel caso della Fig. 75, l'animale era in stadio di digestione più avanzata, anzi assai lontano dal pasto, giacchè il contenuto gastrico era assai scarso. Le gocce sono anche qui molto abbondanti (gialle), e in quest' animale erano anche notevolmente abbondanti le masse di secreto (di recente formazione, come mostra l'aspetto di quelle disegnate), e così anche in una *A. depilans* con contenuto gastrico ormai scarsissimo. Abbondanti nelle Aplisie a lungo digiuno, nè le differenze tra i vari casi accennano a dipendere da una regola semplice. Invece erano piuttosto scarse nell' *A. limacina* X da cui è

tolta la Fig. 76. Ed era un animale a stomaco molto pieno, ben pasciuto. Erano molto scarse in un' *A. depilans* ben pasciuta, nell'*A. limacina* IV che era stata 3 giorni a digiuno, e in molte altre.

Ma dopo riconosciuta la derivazione di queste gocce dalle masse di secreto, l'irregolarità del loro comportamento si comprende assai bene; esse infatti, essendo uno stadio di passaggio, devono dipendere da condizioni svariate e molteplici. Esse possono, appena formate, venire utilizzate o rimanere a lungo negli interstizi cellulari, e dipende la loro varia abbondanza, oltre che dalla loro formazione più o meno rapida, dal consumo, esso pure vario. È vero che questi elementi di variazione esistono anche per le masse di secreto; ma per queste, essendo il loro processo un vero processo di formazione nel senso chimico, quindi richiedente sempre di sicuro un certo tempo, essendo le masse stesse grandi ed abbondanti in modo da rappresentare una notevole provvista di riserva, quegli elementi di variazione non possono farsi sentire troppo rapidamente con intensità, ed esse si trovano in un certo modo a riparo dalle variazioni del momento. Invece le gocce, più piccole, facili probabilmente a formarsi, facili a consumarsi, essendo solubilissime, sono più esposte a tutti i più piccoli cambiamenti nelle condizioni di nutrizione dell'animale. Ma se esaminiamo particolarmente quello che accade delle gocce di un determinato aspetto e colore, e particolarmente ancora le condizioni di nutrizione degli animali, tutto diviene molto chiaro. Abbiamo visto che col digiuno le gocce divengono rossastre; orbene, accade sempre che dopo un nuovo pasto si trovano queste rossastre diminuite o sparite del tutto, a seconda dell'abbondanza del pasto e del tempo da esso decorso. Il fatto di trovare gocce di secreto anche negli animali a digiuno mostra che anche indipendentemente dagli stimoli provocati dagli alimenti avviene fino ad un certo grado la loro formazione dalle masse. E allora è molto caratteristico il fatto di trovare le gocce gialline (le quali rappresentano gocce formate recentemente) negli animali da poco assoggettati al digiuno. Le gocce avana sono invece le più frequenti nelle condizioni normali e rappresentano probabilmente anche esse gocce di recente formazione, ma formatesi in condizioni di più attiva digestione. Questa cosa può facilmente suppersi, data per esempio la loro presenza in quell'*Aplisia* (XI) che dopo 7 giorni di digiuno aveva mangiato per 3 giorni. L'esame del contenuto gastrico mostrava infatti che essa aveva ripresa attivamente le sue funzioni di digestione, e quello del fegato pure. Se ora torniamo a considerare la *A. depilans* I ben

pasciuta ed in attiva digestione, il ritrovarvi le gocce avana sta in accordo coll' ipotesi fatta sul loro significato funzionale.

Concludo dunque, in breve, che le masse di secreto formatesi da un prodotto elaborato dal protoplasma, e che si concentra in pallottole e poi in una massa unica o quasi nella cellula, si dividono poi di nuovo in gocce che si consumano man mano nella digestione, e vengono man mano riformate, avendo per dimora transitoria gli interstizii tra le cellule sferulose. Le masse di secreto sono una forma di riserva, e generalmente, come ho detto, arrivano ad essere una sola o due in una cellula; ma non è esclusa la possibilità che anche prima di raggiungere questo stadio, da una massa che abbia per esempio l'aspetto di quella rappresentata nella Fig. 118, si liberino gocce di secreto.

Dal punto di vista chimico, qualche modificazione devon subire questi secreti, nel passare dallo stato di massa di riserva a quello di gocce interstiziali. Infatti le gocce interstiziali sono solubilissime anche in acqua distillata, sì che non si conservano quasi nei preparati di pezzi fissati in liquidi acquosi. Se i pezzi non son passati per acqua, si può fare la reazione sulle sezioni, dopo attaccate al portaoggetti, sparaffinate ecc.; spariscono coll' acqua proprio rapidissimamente. Invece le masse di secreto sono molto più resistenti, non solo all' acqua distillata, ma anche agli acidi non troppo forti. E per questo si conservano in pezzi fissati in sublimato acetico o in liquidi osmici. E non dipende ciò dal fatto della loro maggiore grossezza, perchè facendo la reazione sulle sezioni attaccate al vetrino, si fanno sopra una sottilissima fettina, che non differisce dalle gocce altro che in superficie. Anzi si può facilmente persuadersi che l'acqua non le discioglie affatto, scolorandole soltanto un poco. Non si tratta dunque nel passaggio da una massa a delle gocce di un semplice cambiamento di forma. E questa trasformazione chimica che avviene — ignota, ma probabilmente di natura assai semplice — è anche interessante dal punto di vista teleologico, considerando che le masse di riserva sono destinate, in quello stato in cui si trovano, a conservarsi appunto come fornimento da spendersi poi gradualmente, le gocce invece a disciogliersi subito per potere rapidamente adempiere all' ufficio della digestione. Tanto la loro estrema solubilità quanto la loro posizione al di fuori delle cellule sono tutte condizioni che concorrono a questo scopo.

Si può forse ritenere che il secreto si trovi nelle masse di riserva in quella condizione di zimogeni nella quale si suole general-

mente ammettere che molti altri secreti si trovino finchè rimangono nell' interno delle cellule che li hanno prodotti.

7. Fegato (segue) — Cellule secernenti a piccole gocce.

Passo alle altre cellule secernenti, le cellule secernenti a piccole gocce. Queste sono molto interessanti e curiose. Di quello che riguarda la tecnica ho già discusso; giacchè a fresco non son riuscito a isolarle, per quel che concerne la cellula intera mi riferisco nella descrizione solo alle sezioni di pezzi in paraffina (veggasi la Fig. 116). Queste cellule sono molto allungate, ma non raggiungono mai l'altezza delle cellule clorofilliche con cui sono miste. Sono impiantate alla base su di una stessa linea insieme con esse; dove l'apice un poco appuntito arriva, in generale le cellule clorofilliche contigue si separano, sì che anche l'apice delle secernenti giunge alla cavità del canalino epatico. La grossezza è sempre di pochissimi μ (in generale 2 o 3). Data questa loro forma così esile e allungata, si capisce quanto sia difficile di trovarne nelle sezioni alcune che siano tutte comprese in un medesimo taglio, e che siano bene evidenti; per questo secondo scopo infatti bisogna fare le sezioni molto sottili (3μ) ed allora difficilmente tutta la cellula si trova in uno stesso taglio. Nella figura per esempio quella di mezzo vi compare solo in parte. — La struttura di queste cellule è assai semplice: esse contengono una quantità di gocce allineate per lo più su di una sola fila, diversamente colorate secondo i casi, e che riempiono la cellula quasi completamente fino alla base. Il nucleo, allungato e piccolo, si trova vicino alla base, in generale a un livello un poco più alto dei nuclei delle cellule clorofilliche circostanti.

La posizione di queste cellule è caratteristica. Esse si trovano dappertutto alternate colle clorofilliche, ed è rarissimo che due di queste siano contigue fra loro. Le cellule secernenti, siccome sono così esili e si interpongono in tutti gli interstizii tra le clorofilliche, si trovano in diverse poste accanto, quando rimane compresa nel taglio una porzione notevole in superficie del manicotto che formano intorno a ciascuna clorofillica. Allora, seguendo le sezioni in serie dalle due parti, si trova subito una cellula clorofillica, da ambo i lati.

La posizione di queste cellule ne fa una categoria completamente distinta dalle altre secernenti, senza che possano esservi dubbi. Giacchè, per ricordare il caso più netto, nei grandi canali epatici che percorrono un notevole tratto con direzione retta, troveremo

sempre cellule clorofilliche e secernenti a piccole gocce alternate nel modo ora descritto (epitelio del 1° tipo).

Esse variano per il colore e per la quantità, nelle diverse condizioni di nutrizione. Nel digiuno aumentano e divengono rosee in pochi giorni. Sebbene non si possa a fresco osservare distinta una di queste cellule intera, se ne possono studiare le sferule, che spesso rimangono aderenti a qualche cellula clorofillica più o meno nettamente isolata, o formano ammassi informi insieme con i grani bruni. E così mostra per esempio la Fig. 59 queste gocce divenute rosa dopo 3 giorni di digiuno. Queste gocce divengono rosa molto prima delle altre derivanti dalle grandi secernenti. Rimangono tali anche negli animali a digiuno da molti giorni, e spariscono presto con un nuovo pasto, prima ancora che le gocce rosa derivanti dalle masse di secreto. In condizioni normali non sono mai tanto abbondanti quanto nel digiuno, e il colore è quasi gialliccio. Hanno insomma queste gocce dei caratteri che le avvicinano assai a quelle derivate dalle masse di secreto. Ma non si può dimostrare che siano del tutto simili fisiologicamente. Anche queste gocce sono solubilissime in acqua distillata, lasciando un piccolo residuo in forma di granulo pigmentato; ma specialmente son solubili negli acidi diluiti, e nelle soluzioni di jodio, forse per quella piccola quantità di HI che quasi sempre esse contengono; sì che, come ho già detto, se si adoperano fissativi al sublimato, non si può usare l'jodio per fare il lavaggio; si possono tuttavia usare delle soluzioni sature di sublimato in acqua o acqua salata, soluzioni che non sciolgono le gocce, passando poi direttamente in alcool.

Per dimostrare che anche queste gocce sono un secreto attivo nella digestione, abbiamo come argomenti da un lato la loro somiglianza colle gocce interstiziali, somiglianza che si mantiene anche nelle variazioni, inquantochè anch' esse divengono rosa quando divengono rosa le interstiziali; la solubilità è pure carattere comune. D'altro lato il loro rapido consumo dopo il pasto — carattere anche questo comune alle due specie di gocce — è di per sè argomento assai valido per ritenere che esse gocce abbiano una funzione durante la digestione. Il loro rapido consumo dopo il pasto mostra che anche per questo l'utilizzamento è rapido, e giustifica ancora una volta il nome di »riserva di secreto« che ho dato alle masse di secreto completamente formate, le quali sole tra le varie forme secretive del fegato si mantengono più lungamente durante la digestione, venendo solo esaurite da pasti abbondanti e ripetuti.

8. Fegato (segue) — Cellule sferulose.

Eccoci finalmente all' ultima specie di cellule del fegato delle Aplisie, quelle che ho chiamato cellule sferulose per il loro aspetto, giacchè è il loro carattere più saliente quello di essere composte di gocce o sferule incolore, rifrangenti, le quali riempiono addirittura tutto il protoplasma. Una cellula tipica di questa specie è rappresentata p. e. nella Fig. 106. Il nucleo è nascosto dalle gocce, come accade quasi sempre nell' esame a fresco di questi elementi; esso compare però, in generale, dopo un poco di tempo che il preparato è stato fatto, per un lento divaricamento delle gocce che lo ricoprivano. La rifrangenza delle gocce, specialmente quando son piccole, è tale che a piccolo ingrandimento la cellula sembra completamente nera. Quale sia il significato funzionale di queste sferule, è difficile supporlo. Quando si esamina un' Aplisia in buone condizioni di nutrizione, venuta fresca dal mare o bene alimentata in laboratorio, di queste cellule se ne trovano moltissime: vale a dire quasi tutte le cellule sferulose presentano più o meno l'aspetto tipico ora descritto. Col cominciare e col procedere innanzi del digiuno se ne trovano meno di tale aspetto; molte sono piuttosto costituite di gocce assai più grosse e in numero minore (Fig. 112, 3 giorni di digiuno) o assolutamente non hanno nessuna struttura, e appaiono incolore, trasparenti, appena visibili, salvo che un poco opache alla superficie (Fig. 75; è in fuoco la superficie superiore delle cellule). Ora, il caso più frequente è di trovare cellule dei varii aspetti in uno stesso animale, e varia soltanto la proporzione tra quelle dei varii aspetti, ed anche la grandezza delle cellule. Nelle Aplisie ben nutrite è facile trovarne di assai grandi (p. e. Fig. 109) e nelle quali le sferule non hanno tutte la medesima grandezza; mentre queste forme, quali rappresentano le figure, sono molto più rare negli animali a digiuno; e rare anche le cellule molto grandi come quelle della Fig. 112; nel digiuno molto lungo si può trovare talvolta una scarsità di cellule a struttura tipica sferulosa, veramente notevole. Una volta in un' *A. limacina* che aveva mangiato per qualche ora dopo un digiuno di 10 giorni, quasi tutte le cellule sferulose erano senza struttura, come fossero ripiene di un liquido omogeneo perfettamente incolore; in quest' animale era un' eccezione rarissima di poter trovare una cellula sferulosa tipica. E in generale sempre dopo i lunghi digiuni le sferule erano scarse; nè il mangiare per qualche ora o per un giorno, dopo il

digiuno, dava dei risultati tali da poter stabilire qualche differenza. Quanto alla forma di queste cellule, nemmeno si notano differenze, giacchè essa è quasi sempre assai vicina alla sferica, un poco appuntita verso il lume del canalino epatico. La forma allungata quale quella rappresentata nella Fig. 107 la ho riscontrata soltanto come eccezione. È piuttosto notevole la forma un po' più irregolare presentata qualche volta dalle cellule con sferule di diverse dimensioni ed assai grandi (Fig. 109).

Insomma si può concludere che le cellule sferulose non variano subito notevolmente col variare delle condizioni di nutrizione; che presentano raramente condizioni estreme nelle loro variazioni, essendo per lo più miste quelle di aspetti diversi in proporzione varia tra loro; e che questa proporzione, pure non dando risultati schematici di variazione nelle varie condizioni, è tale da permettere l'affermazione che le sferule diminuiscono col digiuno, mentre aumentano le cellule a struttura omogenea. Le cellule con sferule di varie dimensioni sono specialmente caratteristiche degli animali in buone condizioni di alimentazione. Le dimensioni accennano a diminuire col digiuno.

Che cosa sono queste cellule? Esse hanno dato assai a discutere già ai precedenti ricreatori, i quali sono d'accordo nel ritenere che le loro sferule contengano calcio. BARFURTH le ritiene costituite di fosfato di calcio, e BIEDERMANN & MORITZ si accordano nella sua opinione. Si tratta qui di specie terrestri, *Helix*, *Arion*. FRENZEL invece, come conclusione generale per tutti i Molluschi, ritiene che contengano calcio, ma legato a composti organici. E veramente meritano di essere ricordate le sue argomentazioni. Dal fatto che nell' *Halotis* l'acido ossalico e l'ossalato potassico danno un precipitato in quelle sferule (ossalato calcico) deduce che nei Molluschi le sferule di quelle cellule contengono calcio! Quanto alle Aplysie, io lo nego recisamente. Non vi è calcio, giacchè nè l'acido solforico, nè l'acido ossalico o l'ossalato potassico danno luogo in quelle sferule ad una precipitazione. Tutte le sostanze sopra ricordate, in soluzione acquosa, come anche l'acqua distillata pura, sciolgono completamente le sferule; e quest'azione si può seguire al microscopio, operando come segue. Una fettina di fegato fissato in alcool è attaccata al portaoggetti con albumina glicerinata o miscela di SCHÄLLIBAUM; si versa una goccia del liquido, con cui si esperimenta, sopra la fettina, e subito si copre col coprioggetti e si osserva; le sferule, dapprima abbondanti, vanno a poco a poco

diminuendo di numero; si disciolgono regolarmente dapprima all'esterno, impiccolendo, e poi completamente. Ora io non mi so immaginare un composto di calcio che non dà precipitato con ossalato potassico, e tanto meno un fosfato tricalcico solubile nell'acqua.

Dobbiamo dunque concludere che queste Kalkzellen degli autori solo in alcuni Molluschi hanno una importanza nel metabolismo del calcio, e probabilmente solo nei Molluschi con conchiglia. Qua nelle Aplisie, dove la conchiglia è appena rudimentale, non hanno tale funzione. Ma da questa conclusione negativa ne deriva anche una positiva: che quelle sferule sono in relazione con qualche altra funzione. Ora, quella relativa indipendenza che abbiamo osservato in queste sferule dalle condizioni di alimentazione, il fatto che esse si trovano anche negli animali a digiuno, diminuite, ma non in modo molto netto, indicano che i loro rapporti coll'alimentazione non sono immediati, che il loro significato funzionale deve essere, dal punto di vista del metabolismo in un certo senso, più elevato, rappresentando essi stadii di trasformazione di materiali lontani dal punto di partenza (alimenti) e, per dir così, di arrivo (secrezioni, escrezioni) oppure elementi di riserva. E l'anatomia comparata conferma questa ipotesi. Perchè nei Cefalopodi le stesse cellule sferulose (l'aspetto delle sferule, la loro rifrangenza, la loro solubilità in acqua permettono di identificarle con queste) si trovano nel fegato, ma non hanno una superficie libera corrispondente al lume dei canalini epatici; sono invece in rapporto col sangue che riempie le lacune dell'organo. Se si considera che nei Cefalopodi il fegato non è un organo assorbente, la presenza di queste cellule colle relative sferule in esso già dimostra che le sferule stesse non sono legate come condizione sine qua non al processo dell'assorbimento. E la loro posizione speciale rende difficile qualsiasi ipotesi per la quale si voglia ammettere che siano legate alla produzione di secreti i quali debbano far parte della secrezione epatica. Se dunque è vero, come pare lecito di dedurre da questi fatti, che queste cellule assumono i materiali di nutrizione dal sangue e nel sangue versano i prodotti del loro metabolismo, o almeno che esse possono funzionare in questo modo, è anche sicuro che le sferule che le riempiono sono o prodotti di trasformazioni ulteriori degli alimenti assorbiti, o materiali di riserva; o che rappresentano contemporaneamente queste due cose. Naturalmente queste considerazioni comparative non portano ad escludere che nelle Aplisie, ove il fegato è organo assorbente, queste cellule assumano i materiali

necessarii al loro metabolismo direttamente dal contenuto dei canalini epatici.

Quanto alla natura chimica delle sferule, data anche la loro solubilità nell' acqua, non è improbabile che esse siano composte in parte o in tutto da idrati di carbonio. Nelle Aplisie sappiamo che essi sono abbondantissimi specialmente quelli pentosici (BOTTAZZI) già ricordati. Lo zucchero è pure stato dimostrato nel fegato di questi animali da BOTTAZZI, in altri Gasteropodi fino da CLAUDE BERNARD. Queste sostanze, in tanta abbondanza, derivano dagli alimenti, giacchè l'*Utra* contiene pentosano ed anido, il quale, come è noto, viene digerito nel canale digerente. Ora, delle considerazioni comparative ci vengono ancora in aiuto. Nei Cefalopodi, che son carnivori, e che assumono quindi una quantità di idrati di carbonio molto minore cogli alimenti, le cellule sferulose sono molto più scarse che nelle Aplisie. Ed anzi, nella *Pleurobranchaea*, Gasteropode, ma carnivora anch' essa, manca ogni traccia di quelle sferule. Non andiamo dunque certamente lungi dal vero se affermiamo che queste cellule sferulose delle Aplisie devono esser legate al metabolismo degli idrati di carbonio, massime come materiale di riserva.

Devo infine notare a proposito di queste cellule, che la loro indipendenza dalle altre specie descritte sembra per ora indiscutibile. Colle clorofilliche e le secernenti a piccole gocce non possono aver nulla a che fare, data la loro situazione in generale diversa. Colle secernenti a grandi gocce si trovano invece miste irregolarmente. Ma non ho mai veduto forme di passaggio tra le due specie di cellule, per quanto le abbia cercate. D'altra parte, quando le secernenti a grandi gocce, nel digiuno aumentano di numero, è frequente la loro disposizione in file, come è disegnato nella Fig. 75, disposizione che fa pensare ad un aumento delle secernenti per divisione di quelle già esistenti. A proposito delle forme di passaggio, devo fare un' avvertenza relativamente alla Fig. 69, la quale potrebbe darne l'illusione. Ivi infatti molte minute sferule incolore costituiscono la parte esterna della cellula, e si tratta di una cellula secernente. Ma tale illusione, se può aversi nel disegno, non si ha nel vero. La rifrangenza diversa delle sferule, che non è riproducibile nel disegno, esclude assolutamente questo dubbio, quando si osservano le cellule al microscopio. Infatti, mentre la rifrangenza delle sferule nelle cellule sferulose è grande, in quella cellula secernente e nelle altre simili le sferule della zona esterna non appaiono

per nulla molto rifrangenti, anzi non mostrano l'aspetto di avere rifrangenza diversa dal mezzo ambiente. Onde queste sferule e quelle non sono da confondersi.

9. Le cellule epatiche secondo MAZZARELLI.

Per non rendere meno chiara la descrizione delle varie cellule epatiche con troppe digressioni polemiche, mi son riservato di discutere qui a parte la descrizione fattane dal MAZZARELLI (93) nella sua monografia. A vero dire, non è facile capire subito quali cellule del fegato corrispondano alle distinzioni dei precedenti autori, cioè, in questo caso, del FRENZEL che unico si è occupato estesamente del fegato delle Aplisie. Non è facile, sia per la grande varietà di forme che capitano sotto l'occhio nell'esame a fresco e che richiedono un esame prolungato per identificarle colle forme che si osservano nelle sezioni, sia anche per il fatto che il FRENZEL stesso ha più di una volta sbagliato nelle sue identificazioni anatomico-comparative — come verrà in seguito dimostrato — e perchè di una specie di cellule, le sferulose, non dà figure soddisfacenti. E al MAZZARELLI è appunto capitato il caso di sbagliare nella identificazione delle specie di cellule, sia tra il vero e la descrizione del FRENZEL, sia tra l'esame a fresco e quello delle sezioni. È facile dimostrarlo. Vedasi nella tav. 7 del MAZZARELLI la Fig. 7 a', ove egli rappresenta secondo lui delle Keulenzellen del FRENZEL. Le quali (MAZZARELLI, pag. 79) sono le più numerose tra le cellule del fegato, come infatti è per quelle che egli ha disegnato, ed hanno un contenuto »grossolanamente granuloso«. Adesso, si osservi nella Fig. 111 della tav. 7 del FRENZEL (86) quali sono le cellule con contenuto grossolanamente granuloso, e le più abbondanti. Siccome nella spiegazione di questa figura possono muoversi dei dubbi di interpretazione, non essendo nettamente specificata, si confronti questa figura colla 112, che appartiene a un altro animale, ma in cui vi sono le stesse tre specie di cellule; qua la spiegazione dice: »Schnitt von *Tethys* mit zwei Keulenzellen und einer Kalkzelle«. Dunque le altre, che sono appunto le più abbondanti e a contenuto grossolanamente granuloso, sono Körnerzellen. Di più, le Körnerzellen sono nei disegni e nella descrizione del MAZZARELLI (Fig. 7, 8 della Tav. 7 e pag. 81) cellule a contenuto granuloso o di aspetto un po' diverso, il cui »nucleo è grosso ed ovoide ed occupa ordinariamente il mezzo della cellula«. Ed il FRENZEL (pag. 164): le

sezioni »zeigten, dass der Kern immer im Fußtheil der Zelle liegt Die Größe des Kernes ist im Verhältnis zu derjenigen der erwachsenen Zelle eine außerordentlich kleine. L'accordo è perfetto! Vedasi invece come le Körnerzellen del MAZZARELLI corrispondano alle figure delle Kalkzellen del FRENZEL, ed alla relativa descrizione (pag. 244): »Die Größe der Kalkzellen erreicht und übertrifft die der Epithelzellen, obwohl ihre Höhe eine geringere ist als bei diesen. Da sie aber eine sehr breite Basis haben, so erscheinen sie schon in den Schnitten (als Flächenbilder) oft um das Doppelte oder Dreifache größer als z. B. in den Körnerzellen (Taf. 3, Fig. 111) . . . Die Gestalt dieser Zellen steht zu derjenigen der Körner- und Keulenzellen im schärfsten Gegensatz, denn während die ersteren cylindrisch (prismatisch) und die letzteren birn- oder keulenförmig, in ihrer Jugend aber ebenfalls mehr cylindrisch sind, so ist die Gestalt der Kalkzellen eine mehr isodiametrische, so dass sie im Schnitt aussehen, wie man ein gleichseitiges sphärisches Dreieck auf dem Papier darzustellen pflegt Die Anzahl der Kalkzellen im Gewebe pflegt eine bedeutend geringere als die der anderen Zellen zu sein.« — »Esse sono più o meno irregolarmente allungate« — ma nel senso della base, v. Tav. 7 dell' autore stesso — »e più grandi delle cellule claviformi« (pag. 81). Queste ultime parole, che sono del MAZZARELLI, si riferiscono ancora a quelle che egli crede siano le Körnerzellen. Finalmente, non si capisce bene che cosa siano le Kalkzellen di MAZZARELLI. Giacchè ritenendo egli che esse siano da identificarsi colle sue Keulenzellen (in realtà Körnerzellen di FRENZEL), come stadii differenti, non ci dice quale è quello stadio che il FRENZEL ha chiamato Kalkzelle. Ma siccome MAZZARELLI e FRENZEL convengono nel ritenere che siano tre le specie di cellule del fegato dell' *Aplisia*, per via d'esclusione deriva che le Kalkzellen di MAZZARELLI sono quelle le quali conservano nei preparati delle gocce pigmentate, cioè le Keulenzellen di FRENZEL. Si tratta di gocce verdastre più o meno ammassate e contenute in un vacuolo, nelle figure di sezioni del MAZZARELLI (Tav. 7, Fig. 7 e 12). Ed il FRENZEL, oltre quello che ho già citato, dice delle Kalkzellen (pag. 245): »Auch hier wird der Inhalt der Zellen aus zweierlei Bestandtheilen zusammengesetzt, nämlich aus bestimmt geformten Körpern, den Kalkkugeln, sowie aus dem Protoplasma nebst dem Kerne. Dagegen fehlt hier ein besonders differenzirter Ballen, eine Blase, eine Vacuole oder etwas Ähnliches; die Kugeln sind vielmehr unmittelbar in die Zellsubstanz ein-

gelagert und mit ziemlich gleichweiten Abständen durch den ganzen Zellleib hindurch regelmäßig vertheilt» (pag. 246): »In den meisten Fällen besitzen die Kalkkörper keine eigene Färbung, indem sie dann völlig farblos aussehen.« Mi si permetta di dire, giacchè io pure ho criticato in molti punti il lavoro del FRENZEL, che per criticare un lavoro, come anche il MAZZARELLI fa, bisogna almeno leggerlo.

Dunque, faccio uno specchietto che riassume le false identificazioni del MAZZARELLI:

Keulenzellen di MAZZARELLI	=	Körnerzellen di FRENZEL,
Körnerzellen -	-	= Kalkzellen -
Kalkzellen -	-	= Keulenzellen -

Questo si riferisce alle figure e descrizioni delle sezioni. Per quel che riguarda l'esame a fresco, troviamo nel MAZZARELLI per la prima volta una netta identificazione non sbagliata, ove chiama Kalkzellen ciò che è rappresentato nella Fig. 11 e; ma queste e tutte le altre sferule con gocce pigmentate appartengono secondo la sua descrizione alle sue Keulenzellen + Kalkzellen (= Körnerzellen + Keulenzellen, FRENZEL); ora, mentre per le sfere colorate (Fig. 11 sempre della Tav. 7) ciò è giusto, per quelle incolore non è esatto; giacchè egli dice, sì, che appartengono alle Kalkzellen, ma questa volta appartengono alle Kalkzellen di FRENZEL e non alle sue, che sono le Keulenzellen. Naturalmente, dato questo equivoco, l'A. non ha trovato a fresco nient' altro che potesse corrispondere alle sue Körnerzellen delle sezioni (= Kalkzellen, FRENZEL) e non l'ha disegnato. — Quanto alle sfere con gocce pigmentate, è ben difficile riconoscere nelle sue figure abbozzate quello che appartiene alle Körnerzellen e quello che appartiene alle Keulenzellen di FRENZEL (ossia cellule assorbenti clorofilliche e cellule secernenti), forme che egli si immagina siano stadii diversi di una stessa cosa. Se avesse fatto un esame accurato, avrebbe visto che il pigmento qualche volta si conserva nei preparati e qualche volta no; e che questi due casi corrispondono a gocce o grani differenti e di significato funzionale completamente differente. È inutile che mi diffonda su questo punto, per il quale rimando ai capitoli delle cellule clorofilliche e delle secernenti a grosse gocce. Delle secernenti a piccole gocce, non conoscendole, il MAZZARELLI ha confuso naturalmente le gocce con tutte le altre forme pigmentate.

Quanto alla cromatolisi del nucleo nella secrezione delle »cellule granulose« (= Kalkzellen, FRENZEL), in primo luogo nessuno

ha mai detto che queste cellule siano cellule secernenti. Esse, tra le altre cose, nei Cefalopodi, ove sono uguali a queste, non raggiungono il lume dei canalini epatici. Il MAZZARELLI, non è che abbia degli argomenti per ritenere che esse siano cellule secernenti e digestive, ma si affida a ciò che dicono gli altri, e siccome sbaglia nella identificazione delle varie specie di cellule, crede che gli altri abbiano attribuito a queste una funzione secretoria. Non si tratta dunque, se mai, di cromatolisi in relazione con la funzione secretoria. Che una cromatolisi vi sia, come è descritta e disegnata dal MAZZARELLI (pag. 81—83, Fig. 5 della Tav. 9), è pure dubbio. Qualche granulo tingibile con i colori nucleari si trova talora in mezzo al protoplasma, e lo ho osservato anch' io. L'origine di questi granuli non la ho veduta; ma se anche derivano dal nucleo, mi par molto azzardato di affermare che si tratti di cromatolisi. Non tutto quello che è di origine nucleare, nè tutto quello che si tinge coll'emallume o con altri colori, è cromatina. Basta ricordare, per quest' ultimo fatto e per non andare troppo lontani, che l'emallume tinge talora le gocce di secreto interstiziali. Il significato di questi granuli che si trovano talora nel protoplasma e si tingono coll'emallume bisogna contentarci di dire che è ignoto; e lo sarà del tutto finchè il metabolismo di queste cellule sferulose non sarà stato rischiato sia nella sua essenza chimica, sia nelle sue manifestazioni istologiche, che anche le mie ricerche, per quanto siano state ripetute ed accurate, non mi hanno permesso di definire completamente.

IV. *Pleurobranchaea Meckelii*.

Notevoli differenze vi sono nelle condizioni anatomiche e fisiologiche dell' apparato digerente della *Pleurobranchaea*, confrontata colle Aplisie. Il canale digerente è, nella *Pleurobranchaea*, più semplice: mancano gli stomachi trituratorii; l'esofago, pigmentato fortemente nella sua prima porzione (e Fig. 14), si allarga in una borsa che, distesa, è in proporzione colla grandezza dell' animale di dimensioni assai notevoli; da questa si passa direttamente nell' intestino, che circonda il fegato incompletamente, al più per $\frac{3}{4}$ della sua periferia. La prima porzione è striata al di fuori, e queste strie corrispondono a pliche interne; dopo questa parte, l'intestino è liscio (Fig. 14). Per renderci conto esattamente delle omologie delle varie parti di questo canale digerente con quelle delle Aplisie, bisogna

studiare come si dipartono i canalini epatici dall' intestino, e ritrovare così quel punto che abbiamo chiamato, nelle Aplisie, camera epatica. Esaminiamo per questo scopo delle sezioni (Fig. 15 e 16); esse sono praticate, in un fegato orientato come quello della Fig. 14, come se in quello si facessero parallelamente al piano del foglio. Cominciando a esaminare le sezioni dalle più dorsali, si incontra prima la 15, in cui tutto il canale digerente connesso col fegato è tagliato longitudinalmente, e solo nelle seguenti si incontra col taglio anche la ghiandola ermafrodita, dapprima poco come nella Fig. 16, poi sempre per un tratto di superficie più ampio. In corrispondenza della porzione striata dell' intestino vi è l'origine dei canali epatici. Essi nascono ampiamente da tre insaccature (di cui solo le due inferiori sono incontrate dal taglio nella Fig. 15), le quali insaccature conservano in parte l'epitelio vibratile uguale a quello dell' intestino. Ciò è facile riconoscerlo nelle figure, ove è schematicamente rappresentato l'epitelio intestinale con una linea sottile, quello epatico con una linea più grossa. Come si vede, però, il principio dei canali veramente epatici è pure a forma di larghe insaccature, cioè essi non hanno origine per mezzo di stretti orifici, ma, almeno in parte, comunicano molto ampiamente coll' intestino. Per intendere le due figure schematiche, avverto che ho rappresentato come una massa nera il fegato soltanto per semplicità. Perchè in realtà, essendo esso nient' altro che un insieme di canalini, proseguimento e ramificazioni di quelli il cui principio è segnato nella Fig. 16, nell' osservare le sezioni al microscopio, in quello spazio nero si vedono le sezioni trasverse ed oblique di questi canalini. Possiamo dunque chiamare camera epatica nella *Pleurobranchaea* l'insieme di quelle tre grandi insaccature che, senza limite netto, si continuano colla cavità intestinale. E poichè non vi è un intestino cieco, poichè il tratto striato corrisponde per la struttura a pliche dell' epitelio al cieco dell' *Aplysia*, e queste insaccature sono in rapporto coll' intestino striato, come la camera epatica dell' *Aplysia* lo è col cieco, dobbiamo concludere che la parte striata dell' intestino della *Pleurobranchaea* corrisponde morfologicamente al cieco delle Aplisie. Stabilita questa omologia, resta evidente che l'ultima porzione dell' intestino della *Pleurobranchaea* corrisponde a tutto l'intestino dell' *Aplysia* (dall' apertura cecale all' ano). Lo dimostrano i rapporti che ha, anche nella *Pleurobranchaea*, questa parte del canale digerente col fegato, e il fatto di venire dopo la parte che corrisponde al cieco. Ed ugualmente la parte al di sopra dell' intestino a pliche corrisponde a tutti

gli stomaci dell' *Aplysia*, con una borsa unica. In conferma di queste omologie sta anche il fatto che nel punto s, ristretto, vi è uno sfintere muscolare che funziona, come vedremo, in modo evidentissimo in particolari condizioni, sì che questa parte ristretta viene a corrispondere all' intestino valvolare dell' *Aplysia*. Abbiamo dunque nel canale digerente della *Pleurobranchaea*, tranne gli stomaci trituratori che mancano, le stesse parti che in quello dell' *Aplysia*, ma molto più semplicemente disposte. Derivano da queste condizioni anatomiche più semplici anche delle condizioni fisiologiche diverse. La masticazione, che si compie solo per mezzo della radula, è molto incompleta. Si possono trovare dei pezzi di carne, nell' interno dello stomaco, notevolmente grossi. Le feci non si formano in modo così caratteristico come nelle Aplisie, ma i detriti, residuo degli alimenti, vengono eliminati appena un poco riuniti insieme, ed appena toccati si sfasciano subito; nessuna traccia di cordoncino fecale. Ciò è in completo accordo colla mancanza di un intestino cieco, organo destinato alla formazione delle feci nelle Aplisie, nel modo che abbiamo descritto. Il meccanismo della valvola intestinale è sostituito da quello più semplice dello sfintere posto nel confine tra lo stomaco e l'intestino. Ed uno strozzamento vi è anche più in basso nell' intestino (s' Fig. 14), con ufficio probabilmente simile. Tali sfinteri permettono di assicurare agli alimenti già in parte digeriti una lunga permanenza nella camera epatica e nei canalini epatici. In modo diverso, si ottiene dunque in questo animale il medesimo effetto.

Come ho accennato, la *Pleurobranchaea Meckelii* è carnivora. Essa mangia carne di pesce o piccoli Crostacei, mentre nelle mie esperienze ha sempre rifiutato il cibo vegetale. Però qualche volta deve in parte cibarsi di erbe, giacchè ho trovato (raramente) qualche detrito di alga nella camera epatica.

Il fegato contiene clorofilla? Questa domanda, a prima vista assai semplice, non può avere una risposta precisa. Giacchè in generale l'estratto alcoolico non ne mostra lo spettro, anzi è quasi completamente incolore. Ma si può qualche volta, al contrario, riscontrarne, sempre molto debole. Dobbiamo concludere che, come il mangiar erbe è un' eccezione per la *Pleurobranchaea*, così è un' eccezione per lei l'avere clorofilla nel fegato: e che questa è, nel caso, sempre pochissima.

La clorofilla epatica è, anche qui, clorofilla acidificata. Il secreto del fegato è infatti intensamente acido. Negli animali tenuti

lungamente a digiuno, si raccoglie tra i due sfinteri una notevole quantità di liquido intensamente pigmentato, che riempie anche la camera epatica e sgorga dai canaliui quando il fegato venga tagliato. Il colore è un rosso bruno scuro, e questo liquido è piuttosto denso, poco scorrevole. All'osservazione microscopica mostra in generale di essere completamente liquido, senza corpi solidi sospesi. Però qualche volta — e la cosa è visibile anche nei preparati in paraffina — vi sono delle gocce pigmentate sospese; esse sono uguali a gocce che si trovano dentro le cellule epatiche, da cui dunque evidentemente provengono, essendo destinate a dissolversi. Questo liquido è fortemente acido; esso certamente non è altro che secreto epatico e certo contiene i fermenti digerenti. Quando l'animale, dopo il digiuno, mangia, esso penetra nello stomaco.

L'origine della clorofilla epatica può essere nella *Pleurobranchaea* anche indiretta, quando l'animale si cibi di animali erbivori.

Un' unica specie di cellule si trova, fondamentalmente, nel fegato della *Pleurobranchaea*. A vero dire, se si esamina il tessuto epatico, sia nelle sezioni, sia a fresco, una grande varietà di forme qua pure si nota, come nelle Aplisie. Ma, specialmente in certe condizioni, è facile riconoscere come da una cellula ad un' altra si passi per forme intermedie. E quello che riconduce tutte le cellule a un' unica categoria, è la presenza di sferule o gocce pigmentate di aspetto simile, in tutte. Uno sguardo alla Fig. 162 ci convincerà subito di questo fatto. Questa figura è tolta da un pezzo fissato in sublimato, e l'animale è stato ucciso appena venuto dal mare.

Si possono distinguere due estremi, nell' aspetto di queste cellule, come è anche rappresentato nelle Fig. 163 e 164. Da una parte, cellule allungate spesso, anzi generalmente assai poco, in cui è caratteristica la forma che ha quella a sinistra nella Fig. 163. Un pigmento giallino chiaro, insolubile in acqua, in alcool, in etere ecc., invade tutto il protoplasma. Fochettando con diligenza, si riesce a intravedere una struttura come a piccole gocce sformate e alterate dai fissativi evidentemente, struttura che ricorda molto da vicino quella delle cellule secernenti a grandi gocce, nelle Aplisie, in uno stadio particolare (Fig. 69, 118). Di più un certo numero di gocce brunastre, sparse per il corpo cellulare, ricordano le gocce di fermento che tra mezzo al protoplasma pigmentato si trovano anche nelle Aplisie; unica differenza è, in questo caso particolare, un colore più chiaro nelle cellule della *Pleurobranchaea*; ma se si tenga conto del fatto

che le citate cellule delle *Aplisie* sono tinte colla tionina, la quale ha un poco scurito anche la parte pigmentata, mentre queste della *Pleurobranchaea* coll' emallume, che non le ha alterate; e se si pensi che quelle stesse gocce nelle *Aplisie* sono spesso più chiare, bruno-marrone come qua nella *Pleurobranchaea*, si scorge facilmente come un parallelismo perfetto esista nella forma, nella struttura, nel colore del pigmento, tra le une e le altre cellule; e di più in alcune reazioni, come l'insolubilità in acqua, alcool ed etere del pigmento, affinità per la tionina, ma non per l'emallume ecc. Il nucleo è in posizione diversa: basale nelle *Aplisie*, più vicino alla parte libera della cellula nella *Pleurobranchaea*. Ma i fatti sopra citati mi sembrano più che sufficienti per affermare con sicurezza la perfetta corrispondenza tra le cellule seccrimenti a grosse gocce delle *Aplisie*, e queste della *Pleurobranchaea*. Se ora ci rivolgiamo specialmente all' osservazione della Fig. 164, riscontriamo che la forma delle cellule ivi rappresentate è molto allungata, i nuclei essendo completamente basali. Nessuna struttura è riconoscibile nel protoplasma, il quale è privo di pigmento e di gocce. Ma la Fig. 162 ci mostra cellule scolorite con gocce identiche a quelle delle cellule piene di pigmento. E se ricordiamo che anche nelle *Aplisie* il pigmento diffuso era uno stato transitorio, di formazione, per condurre alla produzione di gocce più o meno riunite o fuse insieme, non possiamo fare a meno di credere che le cellule senza pigmentazione diffusa siano uno stadio più avanzato di cellule pigmentate diffusamente. E il parallelismo coll' *Aplysia* si spinge anche oltre, giacchè le gocce brune mostrano talora una struttura interna, risultando esse composte di tante minute sferule. Ricordo, per le *Aplisie*, la Fig. 85. Ho cercato gocce di simile aspetto dentro le cellule pigmentate in modo diffuso, ma non ne ho trovate; la Fig. 162 mostra come esse siano piuttosto tra le cellule più lontane da quelle a pigmento diffuso. Dunque anche qui dobbiamo ritenere questo stadio a sferule come uno stadio successivo a quello a goccia intera. — Quanto alle cellule senza gocce, le quali si trovano miste con completa irregolarità a quelle con gocce, che hanno la stessa struttura e lo stesso aspetto del protoplasma e del nucleo, non possiamo certamente farne una specie di cellule distinta; e dobbiamo ritenere che siano cellule con gocce, le quali hanno perduto le gocce. Come? Non per dissoluzione, processo di cui non vi è traccia, ma perchè le gocce sono passate nel canale digerente. Infatti, ivi, come abbiamo accennato, si possono trovare qualche volta.

Il fegato, da cui son tolte le tre figure citate, si trovava tutto in queste condizioni; vale a dire tutto l'epitelio epatico è costituito da cellule che sono uno stadio od un altro di un' unica categoria. Cellule a pigmento diffuso, situate piuttosto nei fondi dei tubuli, cellule a gocce scarse o punte, molto allungate, situate a preferenza a ciuffi che, naturalmente, emergono sulle altre più basse e tendono a ricoprirle. Da questo esame dobbiamo dunque concludere che le cellule epatiche della *Pleurobranchaea* sono di un sol tipo, derivando quelle di un aspetto da quelle di un altro. E se in altre condizioni di nutrizione troveremo forme che tenderebbero a farci credere il contrario, dobbiamo pur necessariamente riconoscere che esse sono tra loro funzionalmente distinte in via transitoria e momentanea, ma sempre forme diverse di una stessa ed unica categoria di cellule.

Se questo risultato potrebbe farci pensare qualche cosa di analogo per le *Aplisie*, dobbiamo per esse ripetere che stadii di passaggio tra le forme cellulari diverse non esistono.

Ora che abbiamo acquistato il concetto dell' unicità delle cellule epatiche della *Pleurobranchaea*, esaminiamone qualche aspetto particolare.

Nell' esame a fresco appaiono forme che si potrebbero distinguere in quattro gruppi:

Cellule cigliate (Fig. 128, 129),

- con masse pigmentate, rosa o gialle (Fig. 131—133),
- - gocce rosse (Fig. 143),
- - - più o meno verdi (Fig. 150, 155).

Le prime, con poche gocce pigmentate, od anche senza, hanno delle ciglia piuttosto lunghe, che si scorgono vibrare ampiamente, all' osservazione microscopica. Anche nei preparati in paraffina si possono conservare, sebbene sia un poco difficile e spesso vengano distrutte o portate via. Sulla difficoltà della conservazione delle ciglia negli epiteli epatici ha parlato a lungo anche il FRENZEL. Ma a fresco la cosa è evidentissima; a volte si trovano anche dei piccoli elementi, con due o tre ciglia molto lunghe (Fig. 128 — cfr. nell' *Aplysia*, Fig. 68).

Nelle altre categorie di cellule non ho mai veduto ciglia, nè a fresco, nè nei preparati; tranne nelle cellule con masse rosa o gialle, in cui le ho vedute qualche volta, a fresco. Tali masse si trovano di colore rosa più o meno intenso, specialmente negli animali freschi, mentre in quelli a digiuno più comunemente sono tendenti al giallo, o pallidissime. Che queste due prime specie di cellule siano da

ascriversi a un' unica categoria, come stadii diversi, lo dimostrano, oltre la presenza delle ciglia, alcuni stadii intermedi, forme cioè in cui non si ha una massa unica dentro ad una cellula, ma più gocce, assai grandi come nella Fig. 132, o più piccole, fino ad arrivare per gradi alla piccolezza delle gocce contenute nelle cellule che ho descritto come primo gruppo. È da notarsi anche una certa uguaglianza di colore, nello stesso animale. Quando si osservano le varie cellule di uno stesso individuo, si trova che le gocce sono tutte molto chiare oppure tutte più colorite, e ciò tanto vale per l'intensità del colore, come per il suo tipo.

Ma anche il terzo gruppo, le cellule a gocce verdi, di varia tinta, non è distaccato dai primi. Tali cellule sono assai allungate nelle loro condizioni naturali, sebbene non sia facile vederle in tale forma, per la loro grande attitudine a contrarsi. Le gocce sono spesso molto pressate, non hanno una dimensione costante, e spesso sono più scure nel mezzo, o quasi completamente molto chiare, con una sola piccola macchia intensamente colorata (Fig. 150—156). Talora la parte centrale della goccia è quasi granulosa (Fig. 153). Ma l'intensità di questa colorazione verde non è sempre la stessa. Tantochè si passa dalle forme completamente verdi a quelle che hanno del bruno (Fig. 150), il quale, quando è più marcato, conduce gradualmente fino al rossastro (Fig. 139—142) e quindi al rosso cupo (Fig. 143—144). Nel vero, tra l'infinita varietà di tinte, questi passaggi sono molto più riconoscibili e apprezzabili, che non con qualche figura. E ne risulta che le forme a gocce verdi e quelle a gocce rosse, essendo collegate da forme intermedie, non si possono classificare come due forme distinte. Ma, procedendo più oltre, vediamo anche che tutte insieme queste cellule piene di gocce si posson riportare ai primi gruppi, da cui non differiscono altro che per il numero delle gocce e la forma più allungata. Vedasi infatti che anche le cellule con poche gocce possono essere allungate (Fig. 148) e si tenga conto del modo di formazione delle gocce pigmentate, le quali, sia le rosse che le verdi, mostrano di formarsi in cellule prima incolore; per le rosse, si osservi la Fig. 137; per le verdi, la Fig. 149. Pare che prima si formino gocce incolore o quasi, nel cui interno compaiono delle macchie più scure, che si estendono poi a tutta la goccia. Ora, quella forma rappresentata nella Fig. 136 si riattacca da un altro lato alle masse rosa o gialle nelle quali si vedono più o meno distintamente delle sferule che ne occupano tutta la grandezza. Io ho di questo fenomeno rappresentato

una sola figura (135), ma non è raro riscontrare un aspetto simile, più o meno marcato, tanto nelle masse rosa quanto nelle masse gialle. Dobbiamo dunque ritenere che in seno alle cellule vibratili appaiano prima poche gocce scolorite (Fig. 129), che si sviluppano, aumentando di numero e grandezza, fondendosi anche in una massa unica o quasi, variante di tinta tra il giallo e il roseo. In seno a questa massa si differenziano delle gocce, nel cui interno appaiono macchie più seure, che, a poco a poco, prendono il posto dell'intera goccia.

A fresco, non ho mai veduto un nucleo dentro ad una massa rosa o gialla che sia. Le cellule con masse pigmentate si riconducono dunque più specialmente a quelle cellule che sono rappresentate nella Fig. 161 tolte da una sezione. Invece le Fig. 162 e 163 mostrano che può in certe cellule esservi un nucleo immerso dentro alla sostanza pigmentata, occupante tutta la cellula. In questa massa pigmentata, in cui si può appena intravedere una struttura a finissime gocce, si originano gocce bruno-marrone, sembra, direttamente, ossia senza passare per stadii in cui la cellula è tutta composta di sferule non maggiormente pigmentate nelle quali appaiono le macchie ecc. Nel caso della Fig. citata dobbiamo avere un processo abbreviato, più rapido e forse più diretto, di formazione. Nè si può pensare che la Fig. 162 rappresenti qualche cosa di diverso da tutte le altre. Perchè tutto il fegato da cui essa è tolta ha la stessa struttura istologica, nè vi si riscontrano le cellule con massa pigmentata isolata, da cui il nucleo è fuori, come nella Fig. 161, o le gocce di vario colore. E siccome è fegato di *Pleurobranchaea* questo come tutti gli altri, bisogna che le sue cellule corrispondano, sia pure come stadii differenti o un po' modificati da condizioni speciali, a quelle degli altri.

Vediamo dunque una certa irregolarità nei processi di formazione, che non altera però questo concetto fondamentale: formazione di gocce da masse pigmentate accumulatesi gradualmente. Processo che, come già più sopra ho accennato, corrisponde perfettamente a quello delle cellule secernenti a grandi gocce delle Aplisie.

Dunque riscontriamo un' omologia di questo genere: tutte le cellule epatiche della *Pleurobranchaea* corrispondono alle grandi secernenti delle Aplisie — senza che sia escluso che possano contemporaneamente corrispondere alle altre specie di cellule. Il che equivale a dire che tutte le cellule epatiche della *Pleurobranchaea* sono secernenti, senza escludere che possano contemporaneamente

compiere anche altre funzioni. — Gli stretti rapporti di queste cellule e delle loro gocce pigmentate — le quali presentano anche le medesime reazioni di insolubilità che nelle Aplisie — basterebbero a dimostrarne la loro natura funzionale, oltre che morfologica. Ma ricorderò anche questo fatto caratteristico, a cui ho già accennato: che, mentre non si trovano gocce simili a quelle delle cellule nello stomaco della *Pleurobranchaea*, nè nelle feci, anche del digiuno (salvo eccezioni), esse si trovano talvolta, durante il digiuno, nell'abbondante liquido che riempie il tratto d'intestino limitato dai due sfinteri e la camera epatica, e che scola dal fegato tagliato. Si possono a volte trovare dei cumuli di gocce (Fig. 159). La colorazione intensa del liquido stesso indica che molte gocce si sono disciolte per almeno contribuire notevolmente a formarlo. Questo liquido è evidentemente secreto, pronto a funzionare e a digerire.

Abbiamo dunque nella *Pleurobranchaea* condizioni più semplici che nelle Aplisie, nel canale digerente e nel fegato; sia condizioni morfologiche, sia condizioni fisiologiche. Diventa quindi per compenso più complessa la funzione di ciascuna cellula epatica, la quale oltre a essere secernente è probabilmente anche assorbente. Gli stadii delle gocce di secreto sono anche spesso abbreviati con una certa irregolarità di procedimento. Irregolarità che rende assai più difficile il lavoro del ricercatore, inquantochè non è possibile di tutte le forme, di tutti gli stadii osservati fare una scala ordinata e schematica. Sono però di guida assai efficace le nozioni comparative colle Aplisie.

V. *Helix aspersa* e *pomatia*.

Ho esaminato qualche *Helix*, specialmente per osservare i processi digestivi sopra ad un' erba diversa dall' *Ulva*, e se fossero anche qui ritrovabili i cloroplasti e frammenti di cellule vegetali dentro le cellule epatiche.

Animali alimentati con quella comunissima erba chiamata graminia mi fornirono alcuni dati interessanti. Ho disegnato nella Fig. 165 alcune cellule dell' erba in cui si ha una contrazione del protoplasma e una diminuzione dei cloroplasti rispetto alle cellule normali. La contrazione è probabilmente, almeno in parte, di natura osmotica. Già in questo stadio ogni traccia di idrato di carbonio colorabile colla soluzione iodio-iodurata è sparita.

Ma più notevole è, in stadii di digestione un poco più avanzati, la separazione delle cellule vegetali, delle quali un gran numero si

trovano nello stomaco della chiocciola libere con l'aspetto quasi normale, come è rappresentato nella Fig. 166. Ed anche moltissimi cloroplasti sono liberi, fuoriusciti dalle cellule (Fig. 169). Alcuni infine un poco imbruniti (Fig. 167). Questi fatti sono una nuova conferma della digestione del cellulosio nei Gasteropodi. Ma nel caso dell' *Helix* io non ho veramente da far altro che citare le ricerche di BIEDERMANN & MORITZ (98) i quali hanno ampiamente illustrato questo processo digestivo, studiandolo microscopicamente e chimicamente. Microscopicamente hanno dimostrato la rottura delle pareti cellulosiche ed altri interessanti fatti, che è inutile io stia a ricordare. Ciò che è ancora più degno di interesse è il risultato delle loro digestioni artificiali. Hanno dimostrato con queste la dissoluzione del cellulosio, studiandone i prodotti di scissione. E dicono poi che »dem in dem Magen ergossenen Lebersecret von *Helix pomatia* die Fähigkeit, irgend welche Eiweißkörper pflanzlichen oder thierischen Ursprungs zu verdauen, wenigstens während der Jahreszeit, in die unsere Versuche fielen (April—September), vollkommen abgeht, so dass seine Wirkung allein auf Kohlehydrate (Cellulose, Stärke, Zucker) beschränkt erscheint«. Che l'estratto epatico abbia un' azione digerente sulle sostanze proteiche, fu già dimostrato da molti (KRUKENBERG, BARFURTH ecc.). Perchè il contenuto dello stomaco non ha tale azione? Gli autori prendevano il contenuto gastrico degli animali digiuni, e con questo sperimentavano. Probabilmente il fegato secerne un enzima proteolitico, ma secondariamente, dopo che il cibo è già entrato nello stomaco, e cominciata la digestione degli idrati di carbonio. Tanto più che non i risultati di tutti concordano con quelli di BIEDERMANN & MORITZ; p. e. YUNG (87) attribuisce al succo gastrico una capacità proteolitica. Le differenze di risultati si possono forse attribuire a diverse condizioni di alimentazione in cui sia stato raccolto il succo gastrico. Ho discusso questa questione, perchè nell' *Aplysia* anche accade forse qualche cosa di simile, giacchè mentre l'amido scompare assai presto, e il cellulosio pure viene assai presto digerito, giacchè presto avviene la liberazione dei cloroplasti, prima che avvenga la digestione dei proteici abbiamo argomenti per credere che occorra un certo tempo. Ho infatti lungamente illustrato il fatto dei diversi processi di digestione e come quello che conduce alla formazione di cloroplasti liberi sia precedente a quello che conduce alla formazione dei grani bruni. Ora, perchè i cloroplasti liberi possano essere, come si mostrano, e restare integri nello

stomaco ed arrivare integri fino alle cellule epatiche, è evidente la necessità che non vi siano enzimi proteolitici nel liquido. Mentrechè gli enzimi proteolitici sono necessari per spiegare la formazione dei grani bruni in cui la clorofilla precipita in forma granulare, e in cui si ha frammentazione e contrazione del protoplasma cellulare. Queste considerazioni possono forse anche spiegare come mai BOTTAZZI non abbia riscontrato nel succo gastrico un' azione cellulosolitica, mentre essa in realtà si riconosce coll' osservazione del contenuto gastrico di animali uccisi in digestione. Egli, in generale, filtrava il liquido di stomaci in digestione e si serviva di questo filtrato per le esperienze di digestione artificiale. Ora non è punto improbabile che al sopraggiungere del fermento proteolitico nello stomaco, accompagnato dall' acido che rende bruna la clorofilla, il fermento cellulosolitico cessi di agire; in modo che se gli animali vengono uccisi in digestione un poco avanzata non si possa più avere per mezzo del succo gastrico una cellulosolisi; senza che questo fatto significhi la mancanza del fermento ad hoc nello stomaco, in ogni momento della digestione.

Insomma, tre fatti indicano un prevalere della cellulosolisi nei primi stadii della digestione, e della proteolisi dopo: 1) le osservazioni microscopiche sulla digestione naturale nelle *Aplysiae*, le quali mi hanno dimostrato nell' *Aplysia* dapprima fenomeni di cellulosolisi, senza proteolisi, mentre quello di proteolisi si presenta più tardi; 2) la mancata cellulosolisi nell' *Aplysia* con succo gastrico di animali in piena digestione (BOTTAZZI); 3) la mancata proteolisi (nell' *Helix*) con succo gastrico di animali digiuni (BIEDERMANN & MORITZ), mentre per il succo gastrico dell' *Helix* la proteolisi fu da altri dimostrata.

Ritornando a discorrere delle mie brevi osservazioni sull' *Helix*, ho notato che l'imbrunimento dei cloroplasti è poco notevole o nullo, nonostante una certa acidità del succo gastrico. Ma ciò dipende dalla natura dell' erba. Ne ho fatto l'estratto alcoolico ed ho osservato che acidificandolo l'imbrunimento è molto minore che nell'estratto alcoolico di *Ulva lactuca*. Per le osservazioni spettroscopiche v. il capitolo relativo a pag. 385.

Ma nonostante questa grande quantità di cloroplasti liberi, non ne ho ritrovati nelle cellule epatiche. Altri autori veramente li hanno osservati; in proposito dicono BIEDERMANN & MORITZ che vi si possono trovare, ma raramente, massime dopo lanti pasti. Che

quei grani di cui essi parlano siano della stessa natura dei grani bruni delle *Aplisie*, lo credo per varii argomenti, che però è inutile discutere. Io non li ho veduti forse perchè la stagione in cui ne ho fatto ricerca non era propizia (primavera). In accordo con questo risultato negativo, l'esame spettroscopico non mi ha dimostrato clorofilla nell'estratto alcoolico del fegato.

Quelle che BARFURTH ha chiamato *Leberzellen*, e BIEDERMANN & MORITZ *Resorptionszellen*, perchè assorbono, secondo le loro ricerche, il grasso, quelle cellule che corrispondono alle clorofilliche delle *Aplisie*, sarebbero dunque dotate anche qui, sebbene in grado minore, della capacità di assorbire grossi grani, frammenti di cellule vegetali.

Cellule secernenti a piccole gocce non esistono.

Cellule secernenti a grandi gocce sono abbondanti, e il loro aspetto non è molto dissimile da quello delle *Aplisie*. A questo proposito ho raccolto dei dati in rapporto all'ibernazione. Nelle chiocciole che in estate sono alimentate senza interruzione, le masse di secreto sono abbondanti e scure; se poi si lasciano gli animali per qualche tempo a digiuno, le masse di secreto divengono più numerose, ed una quantità sono completamente nere (Fig. 171). Invece, chiocciole uccise durante l'ibernazione hanno molto meno masse di secreto e più chiare. Nei primi pasti dopo l'ibernazione è frequente l'aspetto della Fig. 172. Credo però che durante l'ibernazione sempre si conservi nello stomaco una certa quantità di liquido scuro e acido.

Questi risultati sono molto facilmente intelligibili. Giacchè altra cosa è il digiuno, altra cosa è il digiuno in stato di ibernazione. Quando un animale viene posto a digiuno in quei periodi in cui soleva mangiare, i processi secretivi seguitano e si accumula il secreto, che per le anormali condizioni non viene utilizzato; onde la grande abbondanza di masse di secreto. Si ha in questo fatto insomma una continuazione dei processi usuali, tranne quelli che necessariamente mancano per la mancanza degli alimenti. Invece nell'ibernazione l'animale si dispone tutto in condizioni particolari, adattandosi ogni sua funzione alle condizioni mutate. Abbiamo qui nella diminuzione del secreto di queste cellule l'espressione di questo adattamento: il secreto, divenuto inutile, non si produce più. Insisto nel mettere in luce questo fatto, perchè il problema dell'ibernazione e delle sue condizioni funzionali, a cui si riannoda, è certamente di grande interesse.

Le cellule sferulose sono abbondanti, forse anche più che nelle Aplisie; le sferule sono generalmente molto piccole (Fig. 170). La figura è tolta da un animale che cominciava a mangiare dopo l'ibernazione. Anche in estate sono piccole, ma notevolmente più grandi di quelle della figura.

VI. Cefalopodi.

Nei Cefalopodi i rapporti del fegato col canale digerente sono tali da non potersi sospettare che il fegato sia un organo assorbente. Infatti sono due sottili canalini che fan comunicare il fegato con il canale digerente, in un punto situato alla radice del tortuoso cieco (Fig. 17 — *Octopus macropus*). Nell' *Octopus* vi è un esofago, un ingluvie, uno stomaco, un cieco avvolto a spira, un intestino. Nella Seppia manca l'ingluvie, e il cieco è meno avvolto a spira. Di più, lungo i canalini di scarico del fegato vi sono due organi ghiandolari, chiamati il pancreas dei Decapodi. — Io ho studiato principalmente alcuni Ottopidi (*Octopus macropus*, *Eledone moschata*) e un poco la *Sepia officinalis*.

Nel fegato, a fresco, predominano le cellule simili alla Fig. 184, vale a dire cellule allungate, che nell'estremità apicale hanno, raccolto in uno spazio speciale, un ammasso di gocce giallastre. Però è difficilissimo poter vedere una cellula nelle condizioni di quella disegnata nella figura, e già essa è un poco contratta, in modo da acquistare la forma claviforme, da cui il nome di Keulenzellen, a torto dato da FRENZEL a questa categoria di elementi. Che quella non sia la loro forma naturale, si decide coll'esame sia di sezioni, sia anche di preparati a fresco in cui gli elementi non siano ancora bene isolati; non si distinguono allora le fine particolarità di struttura, ma è evidentissima la forma delle cellule che è cilindrica e non claviforme. Isolando gli elementi, essi assumono una forma rotondeggiante (Fig. 186 ecc.) rimanendo il grosso ammasso pigmentato circondato da uno strato sottile di protoplasma, in un punto del quale si scorge per lo più un ingrossamento col nucleo. Quel punto corrisponde all'estremità basale della cellula normale, poichè normalmente il nucleo è basale. Il colore del pigmento varia dal rosso al giallastro, ed è più intenso e più rosso nella stagione estiva. Nell'interno della massa pigmentata è facile scorgere, e specialmente in estate, e più nella Seppia, dei corpi allungati, in apparenza cristalli. — Si trovano anche cellule in cui la formazione della massa pigmentata non è molto inoltrata, p. e. Fig. 178—183, ed è radunata in

piccole gocce, oppure che hanno un pigmento che sembra un po' sparso per il protoplasma. Anche qui dunque pare che queste masse pigmentate si formino in seno al protoplasma e per sua propria attività, gradualmente.

In un animale ben nutrito, anche dopo finita la digestione ed espulsa la maggior parte dei residui alimentari, non si trovano nè nelle feci, nè nel contenuto intestinale, dei corpi che ricordino queste masse pigmentate. Se invece un animale si tiene a digiuno, già dopo un giorno si cominciano a trovare nel bacino, delle feci da esso espulse, intensamente pigmentate e che, osservate al microscopio, si mostrano composte di corpi più o meno rotondeggianti, simili a quelli delle Fig. 188, 189, o, se anche di aspetto un po' diverso, tutti ricordanti perfettamente la struttura e il colore delle masse pigmentate delle cellule epatiche. Dopo qualche giorno di digiuno l'espulsione di questi corpi aumenta, poi di nuovo diminuisce. Se si uccide un animale durante il digiuno, si trova l'intestino pieno di essi, più o meno conglomerati insieme.

Resta dunque stabilito che queste cellule pigmentate espellono colle feci, nel digiuno, la massa pigmentata con una scarsa zona incolore attorno, senza che però si possa dire che tutta la cellula viene espulsa; anzi, questo no certo come caso generale, e, se accade, è solo per eccezione.

Sia perchè il modo di formazione di queste masse pigmentate ricorda da lontano quello delle masse di secreto dei Gasteropodi, sia per il fatto che queste masse, le quali sono evidentemente un secreto cellulare, vengono eliminate nel digiuno, e solo nel digiuno, sia infine perchè il fegato dei Cefalopodi ha una potente azione digerente, e queste cellule sono quasi le uniche, per quantità, del fegato stesso, concludiamo che questo secreto pigmentato contiene gli enzimi attivi nella digestione, o almeno alcuni di essi. Sono dunque anche queste delle » cellule secernenti « e secernenti fermenti, come quelle simili delle Aplisie.

Quanto alla natura del pigmento, esso è diverso da quello delle Aplisie. Esso è solubile nell' alcool, anzichè nell' acqua. Speciali strie di assorbimento la sua soluzione non presenta, nè vi è affatto il dubbio che si possa trattare di clorofilla. Negli estratti alcoolici di fegato di *Octopus* e di *Sepia* non ho mai trovato nemmeno tracce di clorofilla.

Oltre queste cellule, ve ne sono delle altre pure pigmentate, e il cui pigmento non è solubile in acqua, ma pure è solubile in

alcool. Una ne è rappresentata nella Fig. 197, e la Fig. 198 non è altro che la stessa cellula, contratta, dopo un poco di tempo che la stavo osservando al microscopio. La forma allungatissima, e con un collo ristretto vicino all' apice, è caratteristica, come si può riconoscere nei preparati in paraffina. Il pigmento è sparso per tutta la cellula in forma di granelli rossi. Talora son granuli molto sottili (Fig. 196) e non è difficile trovare alcune forme che sono probabilmente degli stadii di formazione (Fig. 194, 195). Sulla funzione di queste cellule non ho raccolto nessun dato, e soltanto ho notato, come ho detto, questi stadii di formazione, che le ravvicinano specialmente alle cellule della *Pleurobranchaea Meckelii* in alcuni stadii (cfr. Fig. 137). Tanto che si può supporre che anche queste non siano altro che cellule secernenti fermenti od altre sostanze attive nella digestione.

Una terza specie di cellule sono le sferulose (Fig. 203) a cui si devono probabilmente ricondurre quelle forme granulose rappresentate nelle Fig. 200—202, corrispondenti forse agli stadii senza struttura trovati nelle Aplisie, e alcune forme a sferule, un po' pigmentate, della Seppia (Fig. 204, 205). Ma l'aspetto tipico, presentato per lo più, a sferule incolore e molto rifrangenti, non lascia dubbio sull' identificazione di questi elementi con le cellule sferulose dei Gasteropodi. Nelle sezioni si può riconoscere che queste cellule toccano sì la base dell' epitelio, ma non arrivano al lume dei canalini.

Questa particolarità, a cui abbiamo già accennato, era stata già descritta dal FRENZEL, nella prima parte della monografia. Ed è degna di nota per le considerazioni altrove fatte.

Infine possiamo ricordare che, tagliando i canalini congiungenti il fegato coll' intestino, specialmente durante la digestione, sgorga dal moncone epatico qualche goccia di liquido, intensamente acido alle carte. Il contenuto del canale digerente è pure acido, per lo più, ma non sempre; dopo un pasto abbondante, si può ritrovarlo alcalino. Probabilmente questo fatto non deriva da un primo stadio della digestione, il quale debba avvenire in reazione alcalina, ma solo dal non avere ancora il secreto epatico e quello delle ghiandole salivari neutralizzata la reazione propria degli alimenti, che saranno stati prevalentemente alcalini.

Gli alimenti, pesciolini, granchi ecc., si ritrovano in via di disfacimento dapprima nell' inglavie, e in stadio più avanzato nello stomaco e nel cieco. Nell' intestino in generale hanno già assunto l'aspetto delle feci.

Si presenta ora la domanda: qual' è l'organo assorbente in questi animali? Il cieco, per la sua struttura a molti setti, sembra molto probabilmente devoluto a questa funzione. Probabilmente questi setti, già conosciuti e che quindi non mi dilungo a descrivere, corrispondono morfologicamente alle pliche cecali dell' *Aplysia*; come in esse, vi sono in questi setti delle cellule ghiandolari, probabilmente anch' esse mucose, e situate specialmente sulla linea apicale dei setti. Tale omologia è interessante per la completa differenza funzionale.

Ma anche lo stomaco è organo assorbente. Per ambedue queste parti ho fatto ricerche sull' assorbimento del grasso. Quando si esamina dopo il pasto il contenuto del canale digerente, si trovano grandi gocce di grasso. Sono gocce di colore giallastro, solubili in alcool e in benzolo, tingibili in nero coll' acido osmico. Pensando che potesse esservi un attivo assorbimento di grasso, fissai con miscele osmiocromacetiche dei pezzi di stomaco e di cieco. Dalle sezioni di questi preparati ho tolto le Fig. 206—209.

Nello stomaco, alcuni tratti di epitelio erano ricchissimi di gocce di grasso, altri tratti ne erano sprovvisti. Dappertutto al di sopra dell' epitelio vi è uno strato più o meno spesso, probabilmente di natura chitinoso. Ha un' apparenza più o meno stratificata e si tinge colla fucsina intensamente, specialmente nella zona rivolta verso la cavità gastrica. Nelle figure la tinta bigia o nera di questo strato, come quella delle altre parti nelle cellule, rappresenta la colorazione dovuta alla fucsina, e son solo le pallottoline nere che sono realmente nere anche nel preparato, per riduzione dell' acido osmico. Dunque, tornando alla Fig. 206, essa rappresenta l'epitelio senza grasso; è un epitelio cilindrico a un solo strato, vibratile, e sono evidenti i prolungamenti delle ciglia fino alla base delle cellule. Non differisce insomma fondamentalmente dall' epitelio del canale digerente delle *Aplisie*. — Nei tratti di epitelio gastrico in cui l'acido osmico ridotto indica la presenza di grasso, le gocce sono disposte, quando son poche, alla periferia delle singole cellule epiteliali (Fig. 207). Nella figura sono disegnati 3 nuclei, ma il tratto di epitelio comprende 5 cellule; due sono tagliate nella parte del tutto superiore o inferiore, onde non si vedono i nuclei, e si hanno quelle zone più larghe (una all' estremo sinistro e una verso destra) ricche di gocce nere. Le gocce si spostano evidentemente nelle cellule verso la loro base, giacchè se ne trova qualcuna anche sotto il nucleo. Questo spostamento deve avvenire secondo linee

diritte, come indica il frequente aspetto di molte gocce allineate in file dall' apice alla base delle cellule. Evidentemente tale disposizione è dovuta alla presenza dei filamenti cigliari che arrivano fino alla base delle cellule. Quando una goccia è riuscita a procedere verso la base, nella via che ha percorso probabilmente rimane per un momento una diradatura tra i filamenti, la quale facilita il passaggio di altre gocce.

È inutile dire che, se in questa Fig. 207 non si vedono le ciglia prolungarsi nell' interno delle cellule, ciò non significa che quei prolungamenti siano spariti. È noto infatti come non sempre siano visibili questi prolungamenti, anche quando vi sono.

Nella Fig. 208 è rappresentato un tratto di epitelio in cui il grasso ha riempito completamente le cellule.

Interessante è anche l'aspetto dell' epitelio cecale. I setti del cieco presentano, in sezione, l'epitelio come ondulato, per diversa altezza delle cellule nei vari tratti. Nell' insieme, son formati da due strati epiteliali colle basi affacciate, separati da un po' di connettivo. Sono specialmente i tratti con cellule più alte che si arricchiscono di grasso, la cui quantità va dalle due parti diminuendo. Uno di questi tratti è rappresentato nella Fig. 209, a 1000 diam. Qua non vi è la zona sovraepiteliale chitinoso, onde le ciglia vibratili si vedono libere e più nettamente. Nelle cellule, pochi nuclei sono visibili, e sono basali. La mancanza degli altri è dovuta al fatto che, le cellule essendo assai sottili e lunghe, facilmente sono in parte tagliate obliquamente, e non si arriva a vedere una cellula intera dall' apice alla base dell' epitelio. E la figura, dalla parte della base, è un poco schematizzata.

Il grasso si trova in gocce, specialmente verso la parte apicale dell' epitelio, e le gocce sono di varia grossezza, minutissime le più apicali, più grosse le altre. Ma un fatto è notevole. L'estremità libera delle cellule è munita di un orletto simile a quello delle cellule intestinali degli animali superiori. Sotto a questo orletto, una zona relativamente grande, realmente appartenente alla cellula, è completamente priva di gocce nere. Così, nell' epitelio gastrico, non una goccia di grasso si trova nel largo strato sovraepiteliale. Che nell' orletto delle cellule intestinali di animali superiori non si sia mai veduta una goccia di grasso è cosa nota; ma qua il fatto è ben più caratteristico, giacchè uno strato considerevolmente grosso ne è privo; ancora una volta ci imbattiamo in questo fatto curioso, e nella quasi necessità di ammettere che il grasso entri nelle cellule

epiteliali in forma di composto solubile, cioè, secondo ogni probabilità, di sapone. E solo in una parte della cellula, notevolmente distante dall' apice, tornano a formarsi le gocce di grasso, dapprima piccole, poi più grandi, o per riunione di gocce piccole, o per accrescimento di esse.

Ed è ancora degno di nota che al di sotto dell' epitelio cecale, come al di sotto dell' epitelio gastrico, anche nei punti dove le cellule sono zeppe di grasso fino alla base, non una goccia di grasso è riscontrabile nel connettivo. Esso vi si trova soltanto in stadii ulteriori della digestione, vale a dire parecchio tempo dopo il pasto.

Riferisco qui incidentalmente un' osservazione che ho fatto sopra alcuni Infusorii, trovati una volta nel canale digerente di *Octopus* (Fig. 175—177). Ve ne erano di quelli i quali avevano una corona di ciglia vibratili, come è rappresentato nella Fig. 175. Altri, formati come indica la Fig. 176, non avevano ciglia visibili, ma la parte che è superiore nella figura, si muoveva, vibrando come farebbero molte ciglia insieme. Se si lascia a sè il preparato, fino a che il movimento si arresta, e l'infusorio si contrae un po', tutto il corpo cellulare appare longitudinalmente percorso da filamenti (Fig. 177). Si ha insomma in questi animali un caso curioso di vibratilità, giacchè non vi sono ciglia libere, ma filamenti interni nella cellula, i quali agiscono in modo analogo, facendo vibrare una parte di essa.

VII. *Ostrea edulis*.

Sui Lamellibranchi ho fatto poche osservazioni. Ho esaminato l'*Ostrea edulis*, in cui, secondo il FRENZEL, esistono soltanto le Körnerzellen. Che esista una specie di cellule soltanto è vero, ed anche CARAZZI una sola specie ne descrive (97). — Ma sono proprio le Körnerzellen? Io non ho visto nell' esame a fresco di *Ostrea edulis* nessun grano bruno o cloroplasto. Vero è che non ho esaminato animali freschissimi, ma tolti dal mare da due o tre giorni. Ma in tali condizioni, se ve ne fossero, si sarebbero dovuti conservare ancora, senza dubbio; e poi, il FRENZEL avrebbe descritto due specie di cellule. Giacchè una quantità di gocce rotondeggianti esistono nelle cellule dell' ostrica, pigmentate in giallognolo non tanto intenso (Fig. 173); se si osservano gocce che, anzichè essere completamente isolate, si trovino in ammassi di gocce

simili, il colore appare molto più scuro (Fig. 174). È evidente che sono queste gocce che il FRENZEL ha preso per Körner, forse basandosi sulla reazione del loro pigmento, che è solubile in alcool. Ma, se anche l'aspetto di quelle gocce potesse lasciar dubbii, l'osservazione spettroscopica dell' estratto alcoolico del fegato tronca la questione, giacchè dimostra la completa assenza di clorofilla. Siamo dunque nello stesso caso dei Cefalopodi, in cui esiste un pigmento solubile in alcool e che non è clorofilla, nè normale, nè acidificata. In acqua questo pigmento non è solubile. — Chi vuol seguire la nomenclatura del FRENZEL, deve dunque chiamare le cellule epatiche dell' ostrica »Keulenzellen« anzichè »Körnerzellen«.

Che queste gocce siano un secreto delle cellule e contengano gli enzimi della digestione, senza avere argomenti diretti non posso affermarlo in modo reciso. Ma è quasi sicuro, dal momento che i fermenti secreti dal fegato dei Molluschi in genere sono sempre contenuti in gocce pigmentate, e queste gocce dell' ostrica sono le uniche che possano interpretarsi come un secreto del fegato. Nei preparati a secco, naturalmente, per la solubilità del pigmento, non rimane nell' epitelio epatico nessuna traccia di corpi pigmentati.

CARAZZI, nel lavoro citato, distingue dai lobuli epatici alcuni condotti epatici, non fondamentalmente diversi per la struttura dell' epitelio, e di cui ignora la fine. Su questi non discuto, ma mi preme di fermarmi sopra ai ciechi gastrici, i quali secondo la sua descrizione assomigliano strutturalmente più allo stomaco che all' epitelio epatico. Infatti il loro epitelio è costituito di cellule vibratili allungate molto, con qualche cellula mucosa interposta. Io aggiungo che la loro struttura, se assomiglia a quella dello stomaco dell' ostrica, assomiglia ancora di più a quella del cieco dell' *Aplysia* e della camera cecale. Io non divido affatto l'opinione che l'autore esprime in proposito con una certa riserva. Egli crede che questi ciechi gastrici siano in modo speciale addetti alla funzione di secrezione, i lobuli epatici a quella della »assimilazione« (pag. 14 e 15). Che i ciechi gastrici abbiano una funzione secretoria, sta bene, ma si tratta di un secreto mucoso delle cellule mucose o Becherzellen, nè si può per nulla supporre che questo muco contenga degli enzimi. Se osserviamo quello che negli altri Molluschi avviene, massime nell' *Aplysia*, dove l'affinità di struttura tra il suo cieco e questi ciechi gastrici è più notevole, vediamo che esso ha una funzione prevalentemente, se non esclusivamente, meccanica, nella fabbricazione delle feci. Nei Cefalopodi invece il

cieco, pur conservando delle notevolissime affinità di struttura con quello dei Gasteropodi, esercita una funzione di assorbimento. Ma non mai si ritrova o si può solo lontanamente supporre una funzione secretoria di fermenti. Manca la condizione essenziale, mancano cioè le cellule secernenti a cui si possa attribuire tale funzione. Ora, mi pare che questo caso si ripeta perfettamente a proposito dell' ostrica, ed escludo quindi, per mio conto, una funzione secretoria dei ciechi gastrici in rapporto colla digestione. Rimane da discutere se vi sia o no assorbimento. CARAZZI non lo crede, per i suoi risultati negativi, relativamente alle ostriche verdi e alle esperienze col ferro; e tale induzione sembrami assai attendibile, almeno con riserva. Questi così detti ciechi gastrici restano dunque a considerarsi anche qui come devoluti specialmente a funzioni meccaniche. Va ricordato che questo nome di ciechi gastrici è assolutamente improprio, come pure dice il CARAZZI, perchè si seguitano senz' altro con i canalini o lobuli epatici. Essi corrispondono per posizione ai canali escretori del fegato dell' *Aplysia*, e se d'altra parte hanno una struttura più affine a quella del cieco di quel Gasteropode, ciò non deve far meraviglia, pensando che una parte differenziata, corrispondente alla camera epatica e al cieco delle Aplisie, qua nell' ostrica non c'è. Sono insomma, secondo il mio modo di vedere, nient' altro che canali escretori, destinati a condurre nel canale digerente il secreto delle cellule epatiche; nonchè, se gli alimenti penetrano nel fegato, il che non sappiamo, anche a ricondurne via i residui.

Quanto all' epitelio del fegato vero e proprio, che esso abbia la funzione di secernere gli enzimi, mi pare quasi sicuro, dalle brevi considerazioni suesposte. Quelle gocce pigmentate, erroneamente prese per Körner dal FRENZEL, sono il secreto delle cellule epatiche. E che questa funzione non sia affatto di secondaria importanza, lo dimostra l'abbondanza grande di queste gocce, che nell' esame a fresco formano la parte principale di quello che si vede. Ciò non esclude, ben s'intende, che possano queste cellule avere una funzione di assorbimento. Ma qua ancora vi sono le esperienze di CARAZZI sull' assorbimento del ferro, le quali negano che esso venga assorbito dalle cellule epatiche, direttamente dal contenuto del canale digerente. Che questo fatto escluda in modo sicuro che esse abbiano la capacità di assorbire le sostanze alimentari, più o meno digerite, non si può dire, ma sembra probabile.

Devo fermarmi ancora un momento intorno a ciò che dice il

CARAZZI, a scanso di equivoci. Egli ha osservato un assorbimento postumo, indiretto, del ferro per parte delle cellule epatiche, le quali lo prendono, sempre secondo le sue esperienze, dagli amebociti, caricatisene dalle pareti del canale digerente, e poi giunti nel connettivo circondante i canalini epatici, per via interna. È in questo senso che egli attribuisce alle cellule epatiche una funzione di assimilazione, intendendo con ciò il fatto di prendere il ferro dagli amebociti. Questo per rischiarare la sua parola citata sopra.

Certamente questo assorbimento del ferro dagli amebociti indica, al solito, che il fegato dell' ostrica compie molte funzioni, comprese quelle che negli animali superiori sono esercitate da ghiandole interne del corpo.

Reputo affatto inutile di disegnare dei tagli di fegato di ostrica, essendovene parecchi rappresentati nelle figure del CARAZZI (96 e 97).

VIII. Appendice — Osservazioni spettroscopiche.

L'estratto alcoolico dell' *Ulva lactuca* dà lo spettro della clorofilla quale è rappresentato nella Fig. A, 1. Se si aggiunge alla soluzione qualche goccia di HCl, la soluzione tosto imbrunisce, e contemporaneamente lo spettro cambia; la stria principale in B si altera poco, diminuendo un po' di ampiezza. Spariscono le due strie pallide e vengono sostituite da due strie più strette e più scure, poste assai più verso il violetto. L'assorbimento a destra aumenta leggermente (Fig. A, 2).

In un' erba terrestre, la gramigna, ho fatto pure l'estratto alcoolico, e lo spettro ottenuto era uguale quasi completamente a quello dell' estratto di *Ulva*. Acidificando, si ha in questo caso un imbrunimento molto scarso; le modificazioni dello spettro sono però le stesse. Le strie secondarie sono meno marcate tanto nello spettro della clorofilla normale come in quello della clorofilla acidificata.

In tutti i casi la neutralizzazione o alcalinizzazione con soda o potassa non fa ritornare dalla clorofilla acida alla clorofilla normale.

Il KRAUS nello spettro della clorofilla disegna una stria di più di quelle disegnate nel mio spettro A 1, e precisamente in una posizione intermedia tra le due strie pallide, corrispondente alla parte destra della prima stria pallida della clorofilla acidificata nel mio spettro. E tanto questa stria quanto quelle altre due secondarie sono molto marcate e scure, almeno a giudicare dalle figure che

vengono riportate nei trattati. Ora, ciò non è mai, anche nelle soluzioni molto concentrate, finchè, come nello spettro del KRAUS, le strie sono ancora assai strette. Quanto a quella stria intermedia, nella clorofilla in soluzione molto concentrata si intravede appena tra le due strie pallide un lieve oscuramento, che tende più che altro a congiungerle. Ma non si può veramente parlare di una stria vera e propria.

L'estratto alcoolico delle feci di *Aplysia* mi ha sempre dato lo spettro della clorofilla acida, tranne in quei casi in cui esse erano costituite esclusivamente di cloroplasti verdi; ma anche in questo caso soltanto, se erano proprio le primissime feci dopo un pasto abbondante. Altrimenti lo spettro era quello della clorofilla acida colle strie secondarie molto pallide. Divenivano invece esse sempre più marcate, quando le feci venivano raccolte a maggior distanza dal pasto, ed anche a occhio se ne poteva seguire il graduale imbrunimento.

Nel fegato non ho mai trovato clorofilla normale, sempre invece quella acida; anche qui però il grado di acidificazione, riconoscibile dalla intensità delle strie secondarie, variava, aumentando sempre man mano che aumentava la distanza da un lauto pasto; dopo un digiuno lungo, di 10 o 15 giorni, non si trova più che una traccia di clorofilla, sì che la stria principale è appena visibile.

Nella *Pleurobranchaea Meckelii* una volta ho trovato nell'estratto alcoolico del fegato le strie della clorofilla acida. Vi era infatti qualche frammento di erba anche nel canale digerente. Ed io credo veramente che tale spettro, piuttosto debole, si debba più attribuire al contenuto della camera epatica, che non al tessuto del fegato, nel quale l'osservazione microscopica non poteva riscontrare grani di clorofilla in nessuna forma. Del resto come caso generale non ho trovato clorofilla nell'estratto alcoolico del fegato di *Pleurobranchaea*.

Resultati negativi ho pure ottenuto nei Cefalopodi e nell'*Ostrea edulis*; nei Cefalopodi il pigmento delle cellule secernenti viene estratto dall'alcool, ma non ha strie particolari, assorbendo solo un po' diffusamente la luce, massime la parte destra dello spettro. In condizioni analoghe si trova l'ostrica.

Nelle chioccioline ibernanti, nessuna traccia di clorofilla. In quelle che mangiano non ne ho trovata quando ho avuto la precauzione di prendere quelle parti del fegato che non contengono grossi canali, i quali si vedevano anche a occhio essere pieni di

erba. Non nego però che possa esistere talora clorofilla in questo fegato, e perciò vale quello che altrove ho detto a proposito dell'assorbimento di cloroplasti da parte delle cellule epatiche.

Questi risultati sono veramente assai diversi da quelli ottenuti da DASTRE & FLORESCO (98), i quali studiarono i diversi pigmenti epatici. Essi trovarono nell' *Octopus*, non nella *Sepia*, un pigmento clorofillico, estraibile con cloroformio dal fegato disseccato e polverizzato. Nei Lamellibranchi e nell' *Helix* hanno avuto gli stessi risultati. DASTRE & FLORESCO, nonostante le somiglianze spettroscopiche, dubitano ancora che la »epato-clorofilla« sia realmente clorofilla uguale a quella delle piante. Le mie ricerche intorno all'assorbimento dei grani verdi e bruni nelle Aplisie tolgono ogni dubbio in proposito per quegli animali. La questione rimane riguardo all' *Octopus* ancora sub judice.

MACMUNN infine dice che la stria fondamentale della clorofilla esiste sempre negli estratti epatici, le altre (le due della clorofilla normale e le due della clorofilla acida) sono più incostanti. Ma qualche goccia di acido nitrico le mettono in evidenza, producendo lo spettro a 5 strie che dà la clorofilla vegetale acidificata.

IX. Sommario dei risultati.

Le ricerche, i cui risultati sono andato esponendo, hanno dunque dovuto spesso contrastare a opinioni espresse dai precedenti autori. E specialmente sono i risultati del FRENZEL che io non ho quasi mai potuto confermare, in quei punti nei quali le mie ricerche trattavano argomenti anche da lui trattati. Troppo lungo sarebbe stato il discutere punto per punto le affermazioni da esso fatte nei suoi lunghissimi lavori, sì che ho spesso trascurato di farlo espressamente, limitandomi a discutere le questioni principali. I lavori di BARFURTH riguardano in generale questioni alquanto diverse da quelle di cui io mi sono occupato, e per questo non ho avuto occasione di citarlo molto spesso; pure alcune volte sono stato ben lieto di poter ricorrere ai suoi risultati, che mostrano per lo più di essere frutto di diligente ricerca e savia interpretazione. I lavori di BIEDERMANN & MORITZ sono i più recenti sull'argomento e si può dire anche gli ultimi dopo quelli succitati, in cui si siano studiate le questioni relative al fegato dei Molluschi con metodi microscopici (99). Ma bisogna riconoscere che queste loro ricerche hanno portato un contributo molto scarso alle nostre conoscenze in propo-

sito, poco di nuovo aggiungendo a quello che già si sapeva. Per contro sono veramente interessanti i loro risultati relativi alla digestione del celluloso (98). Nelle questioni molto complicate della meccanica della digestione nelle *Aplisie* ben poco ho trovato nella letteratura, giacchè lo ZUCCARDI e il MAZZARELLI hanno nelle loro esposizioni seguito una via quasi del tutto errata. Le recenti ricerche del BORTAZZI, contemporaneamente alle quali queste mie sono state condotte, non si sono sempre potute intimamente collegare coi miei risultati; occorreranno ulteriori ricerche specialmente microchimiche per fare una più profonda sintesi delle funzioni chimiche delle cellule epatiche delle *Aplisie*, utilizzando completamente i dati della ricerca macrochimica.

Volendo dare un sommario dei risultati delle presenti ricerche, preferisco per comodità del lettore di dividerli in gruppi, secondo la loro natura.

I. Risultati morfologici.

1) Nelle *Aplysiae* i canalini epatici, come è noto, derivano ampiamente dalla camera epatica (camera biliare degli autori). Orbene, l'epitelio dei canalini d'origine (canali escretori) è simile a quello del canale digerente, e quando comincia l'epitelio caratteristico del fegato, per un certo tratto l'epitelio dei canali escretori si continua come una striscia longitudinale nei canalini che per il resto della loro sezione sono veri canali epatici.

La valvola intestinale è composta di due lembi, i quali hanno due porzioni distinte per ufficio, ma che si continuano direttamente l'una nell'altra: la porzione prossimale dei lembi chiude la comunicazione tra il secondo stomaco trituratore e l'intestino; la porzione distale invece chiude l'apertura che dall'intestino conduce nella camera epatica e nel cieco.

2) Nella *Pleurobranchaea Meckelii* la camera epatica è soltanto abbozzata e il cieco non esiste; ma la prima porzione dell'intestino fornita di pliche longitudinali è omologa al cieco delle *Aplisie*. La valvola intestinale non esiste, ma vi è al suo posto uno sfintere muscolare; ed uno sfintere simile è situato in un punto molto più basso dell'intestino, non molto lungi dall'ano.

II. Meccanica della digestione.

3) Nelle *Aplysiae*, dopo la masticazione faringea e quella successiva dello stomaco trituratore, gli alimenti in via di digestione

penetrano nella camera epatica, attraversando la valvola intestinale aperta, e nei canalini epatici, spintivi dalle contrazioni muscolari del canale digerente. Nei canalini epatici, massime nei canalini escretori, una corrente contraria periferica è dovuta all'epitelio dei canali stessi, attivamente vibratile: per causa di questa corrente e dall'epitelio vibratile stesso i detriti alimentari sono spinti lungo le piccole pliche cecali verso una grande plica cecale, nel medesimo tempo che sono impastati e aggomitolati con molto muco. Tanto che sotto la grande plica cecale essi formano un vero cordoncino cilindrico e perfettamente regolare. Questo per le contrazioni del cieco viene spinto via verso l'intestino: e siccome la plica cecale si espande nell'intestino in direzione obliqua, vi viene spinto appunto in direzione obliqua, essendo così obbligato a strisciare lungo la parete intestinale e ad avvolgersi a spira. In tale stato di cordoncino aggomitolato a spira i residui alimentari vengono espulsi come feci, per causa delle contrazioni peristaltiche dell'intestino e in parte anche per i movimenti cigliari del suo epitelio. Il cieco è dunque l'organo dove si formano le feci: la digestione avviene invece nell'ingluvie ove la secrezione epatica viene a risalire per meccanismi alquanto complessi e di cui vedi nel testo.

4) Nella *Pleurobranchaea*, in relazione colla maggior semplicità anatomica e colla mancanza del cieco, non si formano feci a cordoncino, ma i residui alimentari vengono espulsi in forma di detriti irregolari, appena un po' impastati con muco.

III. Osservazioni spettroscopiche.

5) L'estratto alcoolico di *Utra lactuca* (soluzione di clorofilla) mostra le note strie della clorofilla. Acidificando la soluzione, essa diviene di colore bruno e appaiono due strie secondarie nuove.

6) Nelle *Aplysiae* l'estratto alcoolico delle feci dà lo spettro della clorofilla acida. L'estratto alcoolico del fegato pure, e molto intenso. Però col digiuno molto prolungato diviene debolissimo. Anche in questo caso si tratta sempre di clorofilla acida.

7) Nella *Pleurobranchaea Meckelii* l'estratto alcoolico non dà quasi mai lo spettro della clorofilla; se lo dà, dà quello della clorofilla acida.

Nell'*Helix aspersa* e *pomatia* nemmeno dà questo spettro, nè durante l'ibernazione, nè in primavera quando gli animali cominciano di nuovo a nutrirsi.

8) Nei Cefalopodi e nell' *Ostrea edulis* non ho mai trovato clorofilla nel fegato.

IV. La digestione degli alimenti studiata al microscopio.

9) Nelle *Aplysiae*, che si alimentano di *Ulva lactuca* o altre alghe, il processo di digestione non è costante. La parte verde della cellula può venire in gran parte digerita nell' ingluvie, rimanendo la clorofilla in forma di granuli minutissimi; ma più frequentemente i cloroplasti interi rimangono liberi e fuoriescono dalle cellule. Possono o no venire scoloriti per digestione della clorofilla. Più frequentemente ancora, la parte verde delle cellule vegetali si contrae o si spezza in pochi grossi grani, di color bruno (clorofilla acida) con granuli interni più scuri. La fuoriuscita dei grani e dei cloroplasti è resa possibile per il disfacimento delle pareti cellulosiche (almeno quelle intercellulari). Il processo per il quale si liberano i cloroplasti è precedente a quello per cui si formano i grani bruni. Vi è dunque nel succo gastrico dapprima essenzialmente un fermento amilolitico ed uno cellulosolitico, poi un fermento proteolitico (giacchè i grani bruni mostrano effetti di digestione proteolitica) e un acido. Il fermento cellulosolitico non agirebbe più in tali condizioni. Il fermento proteolitico e l'acido sono distinti, poichè si può avere proteolisi senza acidificazione della clorofilla.

Le diatomee vengono pure digerite: i cloroplasti si imbruniscono e si distruggono. Il guscio non sembra venire attaccato. L'amido sparisce.

Le forme su descritte si trovano in tutte le parti del canale digerente. Le feci sono costituite di residui cellulosici non digeriti e di innumerevoli grani bruni o cloroplasti verdi, che non vengono utilizzati.

10) Nell' *Helix* le cellule vegetali degli alimenti vengono in grandissima parte isolate tra loro nello stomaco, e innumerevoli cloroplasti ne fuoriescono. Poco imbrunisce la clorofilla nonostante l'acidità dei succhi, per proprietà inerenti alla clorofilla stessa delle erbe di cui si tratta. Il cellulosio vien dunque anche qui digerito. L'amido sparisce rapidamente.

11) Nella *Pleurobranchaea Meckelii*, carnivora, si trovano nello stomaco forme di disfacimento dei tessuti degli animali mangiati. Non mai grani bruni. È molto raro, ma accade talvolta di trovarvi dei pezzetti di erbe.

V. Le cellule epatiche.

12) Nelle *Aplysiae* il fegato ha 4 specie di cellule:

- 1) cellule assorbenti clorofilliche (*Leberzellen*, *Körnerzellen*). Esse assorbono i granuli liberi di clorofilla, i cloroplasti ed infine i grani bruni, fino a divenirne piene zeppe. Trasformano poi tutte queste forme per digestione endocellulare, esaurendole a poco a poco; dopo un lungo digiuno non contengono più traccia di questi corpi, nè di pigmenti, e sono molto impiccolite.
- 2) Cellule secernenti a piccole gocce, elementi delicatissimi, alternati con regolarità colle precedenti, da cui probabilmente assumono i materiali di nutrizione per scambi tra cellule contigue, producendo delle gocce pigmentate, assai simili a quelle delle cellule seguenti.
- 3) Cellule secernenti a grandi gocce (*Fermentzellen*, *Keulenzellen*). In seno al protoplasma di queste cellule si formano delle minutissime gocce poco rifrangenti, dapprima incolore, poi debolmente pigmentate, che si riuniscono in grosse gocce ed ammassi, i quali sono di un colorito variabile dal verdone e dal bruno-marrone fino al nero. Queste masse, abbondantissime nel digiuno, si riducono coll' alimentazione di nuovo in gocce pigmentate (brune, avana o giallicce), solubilissime nell' acqua, che vanno a far parte del succo gastrico dissolvendosi. Queste gocce insieme con quelle delle cellule precedenti contengono i fermenti attivi nella digestione e l'acido speciale del succo gastrico.
- 4) Cellule sferulose, caratteristiche perchè ripiene, in uno stadio, di sferule molto rifrangenti; in un altro stadio sono invece a contenuto perfettamente omogeneo. Esse sono le *Kalkzellen* degli autori, ma non contengono calcio. Le cellule a struttura sferulosa diminuiscono nel digiuno in confronto a quelle a struttura omogenea. Esse sono probabilmente legate al metabolismo degli idrati di carbonio, che si devono trovare in esse come riserva.

Queste cellule sono miste irregolarmente colle precedenti.

Le cellule assorbenti clorofilliche e secernenti a piccole gocce formano specialmente l'epitelio dei primi tratti dei canalini epatici

epitelio del 1° tipo), le secernenti a grandi gocce e le sferulose. Gli ultimi (epitelio del 2° tipo).

13) Nel fegato della *Pleurobranchaea*, carnivora, esiste una sola specie di cellule, nel senso che tutte le forme derivano da una stessa. Dalle cellule giovani cigliate si passa gradualmente a cellule con grosse gocce pigmentate, le quali si formano per un processo del tutto simile a quello delle masse pigmentate delle Aplisie. Processi di assorbimento vi sono probabilmente, come fanno supporre i rapporti del fegato coll' intestino, ma non ne ho osservati.

Mancano completamente le cellule sferulose e le cellule clorofilliche, in quanto almeno contengano sferule rifrangenti o grani pigmentati d'origine vegetale.

14) Nell' *Helix* confermo l'esistenza di 3 specie di cellule (assorbenti, secernenti, sferulose), seconde l'opinione degli autori.

15) Nei Cefalopodi (*Octopus macropus*, *Eledone moschata*, *Sepia officinalis*), carnivori, il fegato contiene 3 specie di cellule:

- 1) Cellule secernenti, che formano delle gocce pigmentate in bruno, le quali, riunite in ammassi vengono eliminate colle feci nel digiuno (soltanto nel digiuno). Il loro pigmento, a differenza di quello delle gocce di secreto dei Gasteropodi, è solubile nell' alcool. Ma non è clorofilla, nè normale, nè acida.
- 2) Cellule con granuli rossi, non molto fitti, di ignoto significato. Il pigmento è solubile in alcool.
- 3) Cellule sferulose, simili a quelle dei Gasteropodi. Non arrivano ad avere un tratto di superficie libera dalla parte del lume dei canalini epatici. Le sferule non contengono calcio.

16) Nell' *Ostrea edulis* esiste nel fegato una sola specie di cellule (cellule secernenti), con gocce pigmentate simili a quelle dei Cefalopodi, e il cui pigmento è pure solubile in alcool, ma non è clorofilla.

17) In nessuno dei Molluschi da me studiati si può per le mie ricerche dimostrare o supporre una funzione escretoria nelle cellule epatiche.

VI. L'assorbimento del grasso nei Cefalopodi.

18) Le cellule epiteliali dello stomaco e del cieco dopo il pasto si riempiono di gocce di grasso. Esso penetra dapprima nella parte

periferica delle cellule, poi dappertutto. È notevole questo assorbimento da parte di un epitelio nettamente cigliato e vibratile.

Nel cieco uno strato apicale delle cellule epiteliali non contiene nessuna goccia di grasso, mentre subito al di sotto le cellule ne sono riempite. Questo strato è probabilmente attraversato dal grasso in forma di sapone, secondo l'ipotesi analoga fatta per l'orletto delle cellule intestinali degli animali superiori.

Devo ringraziare sentitamente il Dott. S. LO BIANCO, per il materiale abbondantemente fornitomi durante il mio soggiorno alla Stazione Zoologica di Napoli, dove furono per la massima parte eseguite le presenti ricerche. Esse furono poi completate nell'Istituto Zoologico di Bologna.

X. Nota aggiuntiva.

Già era terminato ed in corso di stampa il presente lavoro, quando mi fu dal Prof. PAUL MAYER cortesemente indicata ed inviata una recente pubblicazione di MACMUNN sullo stesso soggetto (00). È necessario che io ne discuta qui i principali risultati. Nei Lamellibranchi l'A. continua a ritenere, come FRENZEL, che le cellule del fegato siano le Körnerzellen dei Gasteropodi. L'autore non porta però, per dire questo, argomenti dimostrativi; anzi l'imbrunimento coll'acido osmico e la insolubilità del pigmento delle inclusioni di tali cellule in etere, alcool, cloroformio (pag. 11) parlano contro tale idea, essendo caratteri proprii delle cellule secernenti nei Gasteropodi, e non delle cellule assorbenti; quanto alla reazione di insolubilità l'A. la ha fatta sulle cellule dei Lamellibranchi dopo fissazione del tessuto in formolo; ma va in modo esplicito notato che nei Gasteropodi la clorofilla delle cellule assorbenti si scioglie nei precedenti reagenti, anche dopo che il pezzo è fissato in formolo. È dunque l'identificazione delle cellule epatiche dell'ostrica colle Körnerzellen (cellule assorbenti) dei Gasteropodi un errore consacrato dalla tradizione e forse dalla presenza di clorofilla, all'esame spettroscopico, in estratti epatici in cui non si sia evitato il contenuto del canale digerente o dei più grossi canali del fegato. — L'A. esprime l'opinione che il connettivo tra i canalini epatici formi «an amoebocytogenous tissue — a lymphatic tissue» (pag. 12, nota). Io avevo taciuto su questo soggetto, ma devo ora dire che tale supposizione avevo fatta ancora io, specialmente per quel che riguarda i

Gasteropodi; in essi infatti (*Aplysia*, *Pleurobranchaea*, *Helix*) il connettivo epatico è spesso differenziato in modo particolare. Sono al massimo grado interessanti alcuni organi sferoidali, situati sotto la parete della camera epatica nell' *Aplysia*, ove sono accumulati un gran numero di piccoli elementi; credo siano questi organi delle vere ghiandole linfatiche, le quali hanno naturalmente un aspetto diverso in questi animali da quello che hanno nei Vertebrati, per la diversità della circolazione. La loro posizione e forma, il fatto che i loro elementi non sembrano per lo più costituenti un vero tessuto compatto, ma piuttosto amebociti ammassati, parlano in favore di questa ipotesi, che non avevo voluto esprimere avanti, ma che esprimo ora, incoraggiato da quella frase di MACMUNN. In ogni modo richiamo l'attenzione dei ricercatori su questi organi sferoidali, e sul connettivo sottoeccale dell' *Aplysia* in genere, il quale ha qualche volta la stessa struttura di questi organi, senza costituire dei corpi sferoidali nettamente delimitati; e che anzi talora si insinua anche tra i più vicini canalini epatici con una insolita straordinaria abbondanza di elementi piccoli, a nucleo fortemente colorabile. Ma spero io stesso di poter presto raccogliere qualche dato più positivo in favore della supposizione suesposta.

Nei Gasteropodi l'A. non ritiene nettamente distinte le cellule che il FRENZEL chiama Körnerzellen e Keulenzellen, nell' *Helix* e *Limax*. Sono a priori disposto ad ammettere tale sua opinione. Ma per credervi è necessario un esame molto più completo di quelle forme, col quale si possa ricostruire tutto il ciclo evolutivo di quegli elementi, come io ho potuto fare per la *Pleurobranchaea*. La somiglianza delle sferette pigmentate nelle due specie di cellule (questo è l'argomento portato da MACMUNN, il quale crede che la differenza tra le due specie sia essenzialmente dovuta alla presenza di una »vesicular looking structure« nella cellula secernente) non ha valore inquantochè, come nel corso di questo lavoro è stato ampiamente illustrato, le sferette pigmentate delle cellule secernenti hanno origine da un pigmento prima diffuso nella cellula, tanto nelle Aplysie quanto nella *Pleurobranchaea*, e fino nei Cefalopodi. Ora ciò avviene molto probabilmente anche nei generi *Helix* e *Limax* (l'A. stesso parla di cellule secernenti che talora hanno una pigmentazione diffusa); quello che non si può certamente ammettere è la trasformazione diretta di un grano di una cellula assorbente clorofillica (cioè di un frammento di cellula vegetale) in una goccia di secreto; onde dall'apparente somiglianza non si può per nulla indurre unità di forma.

Del resto anche le reazioni di solubilità sono nei due casi differenti. Se le due specie di cellule sono in questi animali una sola specie, certo non è in questo senso che forse corrisponde al pensiero di MACMUNN (veramente l'A. non si pronunzia molto nettamente).

L'A., sempre a proposito dell' *Helix* e *Limax*, ed in seguito a reazioni chimiche, conclude per una grande somiglianza nella costituzione dei grani delle cellule assorbenti con i corpi clorofillici delle piante: »It is interesting to note how like the chlorophyll bodies in plants these cell-inclusions are, as far as their chemical constitution is concerned, as both are of a proteid nature, impregnated with an oleaginous substance holding the pigment in solution, which latter is soluble in various fat-solvents, leaving the plasmic substance without colour« (pag. 14 in fondo). Riferisco questa conclusione per non tralasciare alcun argomento in dimostrazione della natura delle inclusioni delle cellule assorbenti — secondo il programma che fin dal principio del lavoro mi son tracciato. L'A. però si ferma a queste considerazioni e non fa il passo decisivo.

Un' altra conclusione dell' autore in cui non posso affatto convenire si riferisce alla funzione escretoria del fegato. Egli osserva cellule di tutte le specie nel lume dei canali epatici ed anche nel canale digerente. Non crede possibile una ulteriore utilizzazione di tali cellule e ne conclude per una funzione escretoria dell' organo. Quanto alla presenza delle cellule nel lume dei canalini, l'aspetto della sua Fig. 8 Pl. 2, che a questo soggetto si riferisce, io lo ho veduto continuamente nei miei preparati. Seguendo le fettine in serie, è molto facile decidere la natura di quelle che egli chiama cellule contenute nel lume dei canali, e che sono invece teste di cellule dell' epitelio epatico tagliate trasversalmente. E se anche realmente talora si dia il caso che delle cellule libere si trovino nei canalini epatici, può forse l'A. garantire che i reagenti adoperati per la fissazione dell' organo, in un tessuto così labile, in cui così facilmente le cellule si distaccano e contraggono, può egli garantire che non siano questi reagenti la causa della presenza di cellule nel lume dei canali? — Nel canale digerente, anch' io ho talora osservato cellule delle tre specie. Cellule secernenti è relativamente facile di trovarcele nel digiuno. Ma si tratta sempre di casi isolati, che non devon far meraviglia in un organo così molle; io son molto più disposto a ritenere tale perdita di elementi cellulari come una perdita inevitabile — data la natura del tessuto — ma che non rappresenta una vera funzione fisiologica; o, se la rappresenta, che

rappresenta soltanto una funzione di cambio delle cellule già lungamente vissute e forse non più adatte alla loro funzione. Sempre però più disposto alla prima ipotesi, di una perdita semplicemente inevitabile. Del resto, come concepisce l'A. una funzione eseretoria del fegato, per la quale cellule intere dell'organo, e di tutte le specie ed in qualsiasi stadio, vengono talora eliminate?

Non ho esaminato la *Patella vulgata*. Ma non credo affatto che in essa si trovino solo le Körnerzellen di FRENZEL e non le cellule secernenti. La presenza di cellule secernenti con gocce di secreto pigmentate è generale in tutti i Molluschi, le cellule clorofilliche si trovano solo là ove vi sia assorbimento di pezzi di cellule vegetali per parte del fegato, ed anche in animali in cui sono da tutti ritenute presenti (*Helix*) qualche volta non si riesce a vederle. Esprimo dunque il dubbio, molto fondato, che anche qui, come nel caso dell'ostrica, l'A. sia in errore.

Nel fegato delle Aplisie l'A. trova fermenti peptico, triptico, amilolitico; la reazione dell'organo è secondo l'A. nettamente acida, contrariamente a ciò che ha generalmente trovato BOTTAZZI. È vero che l'A. ha sperimentato su *A. punctata* e BOTTAZZI su *A. limacina*, ma probabilmente la differenza deve attribuirsi allo stato diverso di nutrizione degli animali esaminati (v. ciò che dico a pag. 348).

La parte più notevole del lavoro di MACMUNN è quella delle ricerche spettroscopiche e fotometriche, colle quali egli dimostra ancora una volta e con indiscutibile certezza che la entero-clorofilla è clorofilla vegetale poco modificata. L'A. fa anche delle ipotesi sull'origine di questa entero-clorofilla. Egli ritiene che le granulazioni pigmentate delle cellule intestinali (*Patella vulgata*) — perfettamente analoghe a quelle che si riscontrano nell'Aplisia — debbano anch'esse il loro colore alla entero-clorofilla. Ma perchè, io domando di nuovo, in queste granulazioni il pigmento resiste alla azione dei solventi e si trova nei preparati istologici, mentre ciò non accade per la entero-clorofilla delle cellule epatiche? Fino a prove più decisive io resto dunque della opinione che ho espresso a pag. 302—303. MACMUNN ritiene che questa supposta entero-clorofilla sia poi trasportata per via indiretta nel fegato, ove è accumulata come prodotto di riserva ed in parte eliminata colle feci. Su tale ipotesi è ormai inutile che io mi fermi, avendo già dimostrato il significato dei grani bruni delle cellule epatiche. Quanto agli amebociti che secondo l'A. si troverebbero nel lume del canale intestinale, e poi insinuati tra le cellule epiteliali dell'intestino (sue Fig. 15 e 16 Pl. 4), si tratta in realtà

di niente altro che delle cellule mucipare e delle loro gocce, le quali venendo da esse eliminate si osservano nei preparati, talora abbondanti tra le ciglia, ed anche oltre nel lume intestinale. Cfr. le mie fig. 123—127, che corrispondono alle sue citate.

Non occorre dimostrare questa mia affermazione; basta guardare le sue stesse figure per convincersene senz' altro.

Bibliografia.

1830. Müller, J., De glandularum secernentium structura ecc. Lipsiae p. 131 T. 17.
- 1844*. Schlemm, Th. Fr. W., De hepate ac bile Crustaceorum et Molluscorum. Dissert. Berlin.
1845. Karsten, H., Disquisitio microscopica et chemica hepatis et bilis Crustaceorum et Molluscorum. Nova Acta Leop. Car. Vol. 21 pars I p. 293—326.
1846. Meckel, J. Fr., Mikrographie einiger Drüsenapparate der niederen Thiere. Arch. Anat. Phys. p. 1—73 T. 1—3.
1850. Leydig, F., Über *Paludina vivipara*. Ein Beitrag zur näheren Kenntnis dieses Thieres in embryologischer, anatomischer und histologischer Beziehung. Zeit. Wiss. Z. 2. Bd. p. 125—197 T. 11—13.
1853. Bernard, C., Recherches sur une nouvelle fonction du foie. Ann. Sc. N. (3) Tome 19 p. 282—340.
1856. ——— Leçons de physiologie expérimentale.
——— Mémoire sur le pancréas. Supplément aux Comptes rendus. Tome 1.
1857. Lacaze-Duthiers, H., Histoire anatomique et physiologique du Pleurobranche orangé (*Pleurobranchus aurantiacus*). Ann. Sc. N. (4) Tome 11 p. 199—302.
- 1878*. Cadiat, L. O., Sur la structure du foie des Invertébrés. Gazette médicale de Paris.
- Krukenberg, C. Fr. W., Versuche zur vergleichenden Physiologie der Verdauung etc. Unters. Phys. Inst. Heidelberg 1. Bd. p. 327—340 T. 2.
- 1879*. ——— Vergleichend-physiologische Beiträge zur Kenntnis der Verdauungsvorgänge. Ibid. 2. Bd. Heft 1.
- *. Über die Verdauungsvorgänge bei den Cephalopoden, Gastropoden und Lamellibranchiaten. Ibid. 2. Bd. Heft 4.
1880. ——— Vergleichend-physiologische Studien an den Küsten der Adria. Heidelberg p. 57—76 T. 1 Fig. 3 u. 4.
1882. Frederieq, L., Sur la digestion des albuminoides chez quelques Invertébrés. Bull. Acad. Belg. Tome 46.
- Krukenberg, C. Fr. W., Über die Verdauungsvorgänge bei den Cephalopoden, Gastropoden und Lamellibranchiaten. Unters. Phys. Inst. Heidelberg 4. Bd. p. 402—417.

1883. Barfurth, D., Über den Bau und die Thätigkeit der Gastropodenleber. Arch. Mikr. Anat. 22. Bd. p. 473—524.
 — Der phosphorsaure Kalk der Gastropodenleber. Biol. Centralbl. 3. Bd. p. 435—439.
 Bonardi, E., Intorno all' azione saccarificante della saliva e alla glicogenesi epatica in alcuni Molluschi terrestri. Comunicazione preventiva. Boll. Sc. Pavia Anno 5 p. 83—86.
 — Contribuzione all' istologia del sistema digerente dell' *Helix pomatia*. Atti Accad. Sc. Torino Vol. 19 p. 17.
 Frenzel, J., Über die sogenannten Kalkzellen der Gastropodenleber. Biol. Centralbl. 3. Bd. p. 323—327.
1885. Barfurth, D., Vergleichend-histochemische Untersuchungen über das Glycogen. Arch. Mikr. Anat. 25. Bd. p. 259—404 T. 15—18.
 Frenzel, J., Über die Mitteldarmdrüse (Leber) der Mollusken. Arch. Mikr. Anat. 25. Bd. p. 48—84 T. 2.
1886. — Mikrographie der Mitteldarmdrüse (Leber) der Mollusken. Erster Th. Allgemeine Morphologie und Physiologie des Drüsenepithels. Nova Acta Leop. Car. 48. Bd. p. 83—296 T. 5—7.
1887. Yung, E., Contributions à l'histoire physiologique de l'Escargot (*Helix pomatia*). Mém. Cour. Acad. Belg. Tome 49 pp. 119 T. 2.
1890. Zuccardi, R., Ricerche anatomiche sull' apparato digerente delle Aplysiae del golfo di Napoli. Boll. Soc. Natural. Napoli Vol. 4 p. 5—14 T. 1, 2.
1892. Mazzarelli, G., Note anatomiche sulle Aplysiidae. 2. Cieco epatico. Boll. Soc. Natur. Napoli Vol. 5 p. 138—142.
1893. Frenzel, J., Mikrographie der Mitteldarmdrüse (Leber) der Mollusken. 2. Theil. 1. Hälfte. Specielle Morphologie des Drüsenepithels der Lamellibranchiaten, Prosobranchiaten und Opisthobranchiaten. Nova Acta Leop. Car. 60. Bd. p. 317—408 T. 20—23.
 Mazzarelli, G., Monografia delle Aplysiidae del golfo di Napoli. Mem. Soc. Ital. Sc. (dei XL) Tomo 9 No. 4 pp. 222 T. 13.
1896. Carrazzi, D., Contributo all' istologia e alla fisiologia dei Lamellibranchi. 1. Ricerche sulle ostriche verdi. Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. p. 381—431 T. 18. — Sullo stesso argomento, nota preliminare nel Monit. Z. Ital. Anno 7 p. 169—171.
1897. — Contributo all' istologia e alla fisiologia dei Lamellibranchi. 2. Ricerche sull' assorbimento del ferro nell' *Ostrea edulis* L. Internation. Monatsschr. Anat. Hist. 14. Bd. p. 117—147 T. 13. — Sullo stesso argomento, nota preliminare nel Monit. Z. Ital. Anno 8 p. 117—119.
1898. Biedermann, W., & P. Moritz, Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Verdauung. 2. Über celluloselösendes Enzym im Lebersecret der Schnecke (*Helix pomatia*). Arch. gesammte Phys. 73. Bd. p. 219—287 T. 6—7.
 Dastre, A., & N. Floresco, Pigments du foie en général. 2. Pigments hépatiques chez les Invertébrés. Arch. Phys. Paris 30. Année p. 259—303.
1899. Biedermann, W., & P. Moritz, Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Verdauung. 3. Über die Function der sogenannten Leber der Mollusken. Arch. gesammte Phys. 75. Bd. p. 1—86 T. 1—3.

- Cuénot, L., L'excrétion chez les Mollusques. Arch. Biol. Tome 16 p. 49—96 T. 5—6.
- La fonction excrétrice du foie des Gasteropodes pulmonés. Critique d'un travail de Biedermann & Moritz. Arch. Z. Expér. (3) Tome 7 Notes p. 25—28.
- Dastre, A., La chlorophylle du foie chez les Mollusques. Journ. Phys. Path. Gén. Paris Tome 1 p. 111—120.
- MacMunn, C. A., The pigments of *Aplysia punctata*. Journ. Phys. Cambridge Vol. 24 p. 1—10 T. 1—2.
- Monti, Rina, Sulla fina struttura dello stomaco dei Gasteropodi terrestri. Rend. Ist. Lomb. Sc. Milano Vol. 32 p. 1086—1097.
- Röhmman, F., Einige Beobachtungen über die Verdauung der Kohlehydrate bei Aplysien. Vorl. Mitth. Centralbl. Phys. 13. Bd. p. 455.
1900. MacMunn, On the gastric gland of Mollusca and Decapod crustacea: its structure and functions. Phil. Trans. B. Vol. 193 pp. 1—34 Pl. 1—4.
1901. Bottazzi, F., Contributi alla fisiologia comparata della digestione. Lo Sperimentale Anno 55 p. 75—106.

Spiegazione delle figure.

Esse sono tolte da preparati a fresco, tranne quando sono indicati i fissativi adoperati. G.n. = grandezza naturale, d. = diametro, c.s. = come sopra.

Tavola 16.

- Fig. A. Spettri della clorofilla (estratto alcoolico di *Ulva lactuca*). 1. Clorofilla normale. 2. Clorofilla acida. La stessa soluzione dapprima normale e poi acidificata ha servito per i due spettri.
- Fig. 1. *A. depilans*. Canale digerente, schematicamente. 1/2 G. n. *fr* faringe, *es* esofago, *in* ingluvie, *1.s* primo stomaco trituratore, *2.s* secondo stomaco trituratore, *i* intestino.
- Fig. 2. *A. depilans*. Intestino valvolare aperto longitudinalmente. G. n. *s* stomaco, *i* intestino, *e* espansione della grande plica cecale nell' intestino. Dall' apertura si penetra a sinistra nel cieco, a destra nella camera epatica e nei canali escretori.
- Fig. 3, 4. Lo stesso animale. Valvola gastrica vista dalla parte dello stomaco. Nella Fig. 4 il lembo valvolare sinistro è caduto in posizione anormale. G. n. *p, p'* punti prossimali, *d, d'* punti distali delle porzioni gastriche dei lembi valvolari.
- Fig. 4^{bis}. Completamente schematica, per mostrare il decorso della secrezione epatica. *c* camera epatica, *s* stomaco, *i* intestino.
- Fig. 5. *A. limacina*. Camera epatica e cieco. Stomaco, camera epatica, intestino (in parte), cieco, aperti di sopra con tagli longitudinali. G. n. *c* cieco, *cc* camera cecale, *cp* canali escretori, *e* espansione della grande plica, *f* fegato, *gp* grande plica cecale, *i* intestino, *pp* piccole pliche cecali, *s* stomaco.
- Fig. 6. Lo stesso animale. Sezione trasversa del cieco, col lobo cecale del fegato (la sezione è stata fatta nel preparato della Fig. 5, secondo la

direzione indicata dalla linea tratteggiata). G. n. *cp* canali escretori, *f* fegato.

- Fig. 7. Lo stesso animale. Sezione trasversa dell' intestino con una piccola porzione di fegato. G. n.
- Fig. 8—10. *A. depilans*. Schemi della disposizione dell' intestino e del fegato. Il fegato in bigio; le porzioni più chiare sono superfici artificiali di sezione, le più scure sono superfici naturali. G. n. *a* apertura corrispondente allo stomaco che è stato tagliato, *cp*, *c'p* canali escretori, *n* punto nodale tra l'intestino della prima spira e quello della seconda (le altre lettere nel testo).
- Fig. 11. *A. depilans*. Cieco contratto con cordoncino fecale. L'epitelio del cieco è rappresentato in nero, e il contorno interno bigio indica l'altezza delle ciglia vibratili, 50 d. *f* fegato, *n* connettivo pericecale.
- Fig. 12. *A. depilans*. Camera epatica e primi canali epatici. 100 d. *c'* piccola concamerazione che si apre nella camera epatica. *v* epitelio vibratile, *1.t* epitelio epatico del 1. tipo, *2.t* idem del 2. tipo.
- Fig. 13. *A. depilans*. Una porzione di fegato. 50 d. *i* intestino, *1.t* e *2.t* c. s.
- Fig. 14. *Pleurobranchaea Meekelii*. Canale digerente. G. n. *e* esofago, *in* ingluvie, *s* sfintere muscolare, *c* porzione dell' intestino omologa al cieco dell' *Aplisia*, *i* intestino, *f* fegato, *g* ghiandola ermafrodita.
- Fig. 15, 16. *Pleurobranchaea Meekelii*, piccolo animale. Sezioni del canale digerente e fegato. Orientati questi organi come nella Fig. 15, la direzione del taglio è parallela al piano della carta. 5 d. Lettere c. s. *g'* ghiandola ermafrodita.
- Fig. 17. *Octopus macropus*, piccolo individuo. Canale digerente e fegato. G. n. *es* esofago, *in* ingluvie, *s* stomaco, *c* cieco, *i* intestino, *f* fegato, *e* suoi canali escretori, *n* ganglio gastrico.

Tavole 17 e 18.

- Fig. 18—127. *Aplysia depilans* e *limacina*.
- Fig. 128—164. *Pleurobranchaea Meekelii*.
- Fig. 165—172. *Helix aspersa* e *pomatia*.
- Fig. 173 e 174. *Ostrea edulis*.
- Fig. 175—209. *Octopus macropus*, *Eledone moschata*, *Sepia officinalis*.

Tavola 17.

Aplysia depilans e *limacina*.

Fig. 18—50. Contenuto del canale digerente.

- Fig. 18. Frammento di *Ulva lactuca*, con resti irregolari di cellule. 500 d.
- Fig. 19. Frammento di *Ulva lactuca*. Sono rimaste soltanto le pareti cellulose. 500 d.
- Fig. 20. Cellule di *Ulva* colla clorofilla precipitata in forma granulare. 500 d.
- Fig. 21. Altra alga, c. s. 500 d.
- Fig. 22. Cellule di *Ulva* c. s. I granuli sono imbruniti. 500 d.
- Fig. 23. Parte verde di una cellula di *Ulva*, coi cloroplasti molto evidenti. 500 d.
- Fig. 24. A. I. Graduale scolorimento dei cloroplasti, ancora dentro le cellule dell' *Ulva*. 500 d.

- Fig. 25. Parte di un resto informe di pareti cellulosiche, con cloroplasti più o meno scoloriti ad esso addossati. 500 d.
- Fig. 26. Resto informe di pareti cellulosiche con grani bruni addossati. 500 d.
- Fig. 27. *A. II.* Un pezzo simile più grande, a minore ingrandimento. 50 d.
- Fig. 28. *A. II.* Dal precedente, una parte a 500 d.
- Fig. 29—31. Cloroplasti e parti informi derivate dalle parti verdi delle cellule di *Ulva*, liberi nel contenuto dello stomaco. 500 d.
- Fig. 32. Grani bruni uguali a quelli della Fig. 26, liberi nel liquido gastrico. 500 d.
- Fig. 33. *A. I.* Grani bruni liberi nel contenuto intestinale. 500 d.
- Fig. 34. Idem, coi cloroplasti imbruniti bene evidenti. 500 d.
- Fig. 35. *A. II.* Piccoli grani bruni liberi nel liquido gastrico, in un animale digiuno. 500 d.
- Fig. 36, 37. Parti verdi delle cellule di *Ulva*, irregolarmente alterate, libere nel contenuto intestinale. 1000 d.
- Fig. 38, 39. Parti verdi ecc., quasi normali, coi cloroplasti bene evidenti, liberi e. s. 1000 d.
- Fig. 40—42. Cloroplasti liberi nel contenuto intestinale, in via di scolorimento. 1000 d.
- Fig. 43—48. Grani bruni liberi nel contenuto intestinale. In alcuni si vedono dei cloroplasti imbruniti, in altri la clorofilla imbrunita è precipitata in forma di granuli. 1000 d.
- Fig. 49. Diatomea colla clorofilla imbrunita, nello stomaco. 1000 d.
- Fig. 50. *A. III.* Tre diatomee, nello stomaco. Due colla clorofilla bruna, una scolorita completamente. 1000 d.

Fig. 51—67. Cellule assorbenti clorofilliche del fegato e loro grani.

- Fig. 51. *A. limacina*. Poche ore dopo un pasto seguito a lungo digiuno. Cellula che ha assorbito un grano bruno e molti granuli di clorofilla verde precipitata. 500 d.
- Fig. 52. *A. limacina VII.* Un giorno dopo un pasto seguito a lungo digiuno. 500 d.
- Fig. 53, 54. *A. depilans I.* Animale freschissimo, col canale digerente completamente riempito. La cellula della Fig. 53 incominciava a contrarsi, quella della Fig. 54 è normale. In questa il colorito marrone chiaro diffuso come tinta di fondo è dovuto non ad una colorazione diffusa della cellula, ma all' effetto dei grani bruni fuor di fuoco. 500 d.
- Fig. 55. *A. limacina II.* Animale fresco ma collo stomaco vuoto. Sottile cellula clorofillica piena di grani bruni piccoli. Cfr. coi grani bruni contenuti in scarsa quantità nello stomaco dello stesso animale (Fig. 35). 500 d.
- Fig. 56. *A. depilans.* Animale fresco e in attività digestiva. Cellula con grani bruni e granuli di clorofilla verde ammassati. 500 d.
- Fig. 57. *A. limacina.* Cellula avente all' apice un prolungamento simile a un piccolo pseudopode. 500 d.
- Fig. 58. *A. limacina II.* Animale a digiuno da qualche tempo. Cellula clorofillica con cloroplasti scoloriti. (La Fig. è alquanto più marcata del vero.) 500 d.
- Fig. 59. *A. limacina III.* A digiuno da tre giorni. Ammasso irregolare di

grani bruni più o meno scoloriti e di gocce di secreto, rosa (appartenenti alle cellule secernenti a piccole gocce). 500 d.

Fig. 60. *A. limacina*. Porzione di una cellula clorofillica divenuta sferica. Nell' interno, cloroplasti e grani bruni. 1000 d.

Fig. 61. Lo stesso animale. Un grano bruno di altra cellula simile, libero nel campo del microscopio per rottura della cellula. 1000 d.

Fig. 62. *A. limacina* VII. Un grano bruno di cellula clorofillica a 1000 d.

Fig. 63. *A. limacina*. Grani bruni alterati, dall' interno di cellule clorofilliche. 1000 d.

Fig. 64—67. *A. limacina* IV. A digiuno da tre giorni. Grani bruni a 1000 d.

Fig. 64. Da un grano bruno tutto di colore verde-bruno, alcuni granuli interni (resti dei cloroplasti?).

Fig. 65. Grano bruno-verdastro con granuli divenuti rosa.

Fig. 66. Tre grani divenuti rosa, con granuli dello stesso colore.

Fig. 67. Un grano divenuto rosa, senza granuli.

Fig. 68—103. Cellule secernenti a grandi gocce, e loro gocce.

Fig. 68. *A. limacina*. Giovane cellula secernente, con un lungo ciglio vibratile e 500 d.

Fig. 69. *A. limacina*. Stadio precoce di una cellula secernente, con minute gocce diffuse. 1000 d.

Fig. 70. *A. limacina*. Stadio più avanzato. Intorno alla cellula, una corona di gocce interstiziali. 500 d.

Fig. 71, 72. *A. limacina*. Formazione delle masse di secreto dalle gocce. Nella Fig. 71 vi è un ammasso di gocce chiare contenenti un punto più scuro interno. Durante l'osservazione le gocce si riuniscono, i punti scuri pure tra loro, e si arriva così all' aspetto rappresentato nella Fig. 72. 500 d.

Fig. 73. *A. limacina*. Ammasso di gocce chiare, con o senza gocciolina scura interna. 500 d.

Fig. 74. *A. limacina*. Una cellula secernente tra due cellule sferulose. I nuclei sono nascosti. 500 d.

Fig. 75. *A. limacina*. A digiuno da due giorni. Estremità di un canalino epatico veduto dal di sopra. 250 d.

Fig. 76. *A. depilans* X. Cellula secernente con massa di secreto e molte gocce simili alle interstiziali (il nucleo è nascosto). 500 d.

Fig. 77. *A. depilans*. Cellula secernente con massa di secreto bigio-plumbea. 500 d.

Fig. 78. *A. limacina*. Massa di secreto di color verdone scuro. 500 d.

Fig. 79. *A. limacina*. Cellula secernente con massa di secreto rossastra. In basso il nucleo. 500 d.

Fig. 80, 81. Masse di secreto di varii colori. 500 d.

Fig. 82, 83. *A. limacina*. Masse di secreto composte di una o poche gocce, di color violaceo. 500 d.

Fig. 84. *A. limacina*. Ha mangiato dopo il digiuno ed è in via di digestione. Cellula secernente allungata colla massa di secreto ridotta in piccole gocce. 500 d.

Fig. 85. Lo stesso animale. Massa di secreto con complicata struttura. È in fuoco il cerchio massimo orizzontale. 1000 d.

- Fig. 86. Lo stesso animale. Massa di secreto che si è divisa in parti. 1000 d.
- Fig. 87. Idem divisa in gocce assai piccole. 1000 d.
- Fig. 88. Come la Fig. 86. 1000 d.
- Fig. 89. *A. depilans* X. Massa di secreto allungata. Verso l'apice l'aspetto è simile a quello delle gocce interstiziali. 500 d.
- Fig. 90. *A. limacina*. Massa di secreto con gocce interne. 1000 d.
- Fig. 91. Lo stesso animale. Una goccia uscita da una massa di secreto simile alla precedente. 1000 d.
- Fig. 92. *A. limacina*. Goccia di secreto con iridescenze verdastre. 1000 d.
- Fig. 93, 94. Lo stesso animale. Gocce di secreto con granuli interni. 1000 d.
- Fig. 95, 96. Lo stesso animale. Gocce di secreto quasi incolore. 1000 d.
- Fig. 97. *A. limacina*. Gocce di secreto colla frequente forma ad 8. 1000 d.
- Fig. 98. Lo stesso animale. Grossa goccia di secreto verde a struttura raggiata. È in fuoco un piano poco più elevato del cerchio massimo orizzontale. 1000 d.
- Fig. 99. La stessa goccia. È in fuoco un piano assai più elevato. 1000 d.
- Fig. 100. Lo stesso animale. Goccia di secreto rossastra a struttura raggiata (fuoco come nella 98). 1000 d.
- Fig. 101. Lo stesso animale. Gocce di secreto rossastre senza struttura raggiata. 1000 d.
- Fig. 102. Gocce di secreto delle cellule secernenti a piccole gocce, di colore rossastro. 500 d.
- Fig. 103. Lo stesso animale. Id., di colore violaceo. 500 d.
- Fig. 104. *A. depilans* I. In piena attività digerente. Cellule sferulose a struttura minuta, con abbondantissime gocce interstiziali. 500 d.
- Fig. 105. *A. limacina*. Piccole gocce sferulose a struttura tipica e regolare, con poche gocce interstiziali. 500 d.
- Fig. 106. *A. limacina*. Cellula sferulosa regolare con fitta rete di gocce interstiziali. 500 d.
- Fig. 107. *A. limacina*. Cellule sferulose eccezionalmente allungate. 500 d.
- Fig. 108. *A. limacina*. Cellule sferulose con sferule non tutte uguali, senza gocce interstiziali. 500 d.
- Fig. 109. *A. depilans* VIII. Poche ore dopo il pasto. Grosse cellule sferulose, con sferule di diversa grandezza e scarse gocce interstiziali. 500 d.
- Fig. 110. *A. limacina*. Una cellula sferulosa piccola e tipica accanto a una a grosse sfere opache. 500 d.
- Fig. 111. *A. limacina*. Estremità di un canalino epatico visto dal di sopra. È composto di cellule sferulose senza struttura. 50 d.
- Fig. 112. *A. limacina*. Tre giorni di digiuno. Grosse cellule sferulose a struttura a grosse sfere, senza gocce interstiziali. 500 d.
- Fig. 113. *A. limacina*. Cellula sferulosa, o frammento, divenuta sferica, natante libera nel campo del microscopio. Struttura a grosse sfere opache. 500 d.
- Fig. 114. *A. limacina*. Cellula epiteliale intestinale isolata, alquanto arrotondata dalla parte della base. 1000 d.

Tavola 18.

- Fig. 115. *A. limacina*. Epitelio plicoso di un grosso canale escretore. La freccia indica il movimento delle ciglia vibratili. *c* parte corrispondente alla camera epatica e al cieco; dalla parte opposta, il fegato. 500 d.
- Fig. 116. *A. limacina*. Epitelio del 1. tipo. Quattro cellule clorofilliche, con tre cellule secernenti a piccole gocce. Sublimato, emallume sulle sezioni. Grossezza della sezione: 3 μ . 1000 d.
- Fig. 117. *A. depilans*. Epitelio del 1. tipo. Tre cellule clorofilliche. Sublimato, emallume. Grossezza: 10 μ . 500 d.
- Fig. 118. *A. limacina*. Cellula secernente a grandi gocce colla massa di secreto in via di formazione (il colore è più scuro del naturale, per causa della sostanza colorante). Sublimato, tionina. Grossezza: 5 μ . 1000 d.
- Fig. 119, 120. Lo stesso preparato. Cellula secernente a grandi gocce in due sezioni contigue. Lo stadio è precedente a quello della Fig. 118. Il nucleo è immerso nella sostanza pigmentata. 1000 d.
- Fig. 121. *A. depilans*. Canale di passaggio, con cellule di tutte le specie. Sotto all' epitelio vibratile, una cellula gangliare. Sublimato acetico, emallume. 200 d.
- Fig. 122. *A. depilans*. Epitelio del 2. tipo, con sole cellule sferulose (le sferule sono state disciolte dai reagenti). Sublimato acetico, emallume. 500 d.
- Fig. 123. *A. depilans*. Epitelio del cieco, di media altezza, con zona di granuli verdi. Tre cellule mucipare in diversi stadi. Sublimato acetico, carmino boracico. 500 d.
- Fig. 124. Lo stesso preparato. Epitelio cecale di massima grandezza, senza zona granulare. Con quattro cellule mucipare in diversi stadi. Tra le ciglia una quantità di gocce di muco. 500 d.
- Fig. 125. Lo stesso preparato. Epitelio cecale di media grandezza, con tre cellule mucipare vuote. 500 d.
- Fig. 126. Lo stesso preparato. Epitelio cecale assai basso con una cellula mucipara in piena attività ed una in degenerazione. 500 d.
- Fig. 127. Lo stesso preparato. Epitelio cecale di minima altezza, senza cellule mucipare, con abbondante zona granulare. 500 d.

Pleurobranchaea Meckelii.

- Fig. 128. Giovane cellula epatica, con due lunghe ciglia. 500 d.
- Fig. 129. Cellula epatica ancora cigliata, con poche gocce di secreto in via di formazione. 500 d.
- Fig. 130. Massa di secreto, da una cellula adulta, nello stadio detto riserva di secreto. 500 d.
- Fig. 131. Cellula divenuta sferica, nello stesso stadio. 500 d.
- Fig. 132. Masse di secreto rosa anzichè gialle. 500 d.
- Fig. 133. Cellula divenuta sferica, con massa di secreto rosa. 500 d.
- Fig. 134. Grande massa di secreto, rosa, senza struttura. 500 d.
- Fig. 135. Idem, in cui si è formata una suddivisione interna (struttura a sferule). 500 d.
- Fig. 136. Cellula non ancora completamente divenuta sferica, in cui da una massa gialla si son formate numerose goccioline. 500 d.

- Fig. 137. Cellula in via di contrazione, in uno stadio di formazione delle gocce di secreto. 500 d.
- Fig. 138—142. Gruppi di gocce di secreto, derivati da cellule artificialmente rotte, di vario colore. Da diversi animali. 500 d.
- Fig. 143. Cellula piena di gocce di secreto rosse, di forma quasi normale. 500 d.
- Fig. 144. Una massa o grossa goccia di secreto, da una cellula simile alla precedente. 500 d.
- Fig. 145. Piccola cellula (o frammento) divenuta sferica. Struttura granulosa, senza pigmento. 500 d.
- Fig. 146. Cellula di struttura simile alla precedente, ma con qualche granulo pigmentato. 500 d.
- Fig. 147, 148. Cellule che da poco han perduto le ciglia, con qualche goccia verde. 500 d.
- Fig. 149. Gocce poco pigmentate, con macchie più scure, inizio delle gocce verdi di secreto. 500 d.
- Fig. 150. Cellula di forma quasi naturale, piena di gocce verdi di secreto. 500 d.
- Fig. 151. Cellula di forma quasi naturale, piena di gocce con macchie pigmentate. 500 d.
- Fig. 152. Cellula simile, divenuta sferica, con alcune macchie notevolmente ingrandite. 500 d.
- Fig. 153. Cellula divenuta sferica, con gocce verdi scure. 500 d.
- Fig. 154. Cellula simile alla 152, ma in stadio più progredito. 500 d.
- Fig. 155. Cellula con gocce di secreto verde vivo, a completo sviluppo (un poco contratta). 500 d.
- Fig. 156. Alcune gocce, da cellule simili. 500 d.
- Fig. 157. Gocce di secreto in un animale digiuno da 7 giorni. 500 d.
- Fig. 158. Cristalli nel fegato disfatto dello stesso animale. 500 d.
- Fig. 159. Ammasso di gocce di secreto trovate accidentalmente nell' intestino, in un animale digiuno. 500 d.
- Fig. 160. Sezione di un canalino epatico, con cellule in varii stadii. Sublimato, emallume. 100 d.
- Fig. 161. Lo stesso preparato. Cellule con masse e gocce di secreto. 500 d.
- Fig. 162. Epitelio epatico senza cellule nello stadio di riserva di secreto. Sublimato, emallume. 500 d.
- Fig. 163. Lo stesso preparato. Cellule a pigmentazione ancora diffusa, per mostrare la posizione apicale dei nuclei. 500 d.
- Fig. 164. Lo stesso preparato. Gruppo delle più grandi cellule, che hanno perduto tutto il secreto. 500 d.

Helix aspersa e pomatia.

Fig. 165—169. Digestione della gramigna nell' ingluvie.

- Fig. 165. Cellule con protoplasma in via di contrazione e cloroplasti diminuiti. 500 d.
- Fig. 166. Cellula dell' erba, natante libera nel liquido gastrico. 500 d.
- Fig. 167. Cloroplasti liberi, alquanto imbruniti. 500 d.
- Fig. 168. Due cloroplasti uniti, probabilmente in un frammento di cellula vegetale. 500 d.
- Fig. 169. Cloroplasti liberi, a struttura nettamente granulare. 1000 d.
- Fig. 170. *Helix aspersa*. Cellula epatica sferulosa. 500 d.

Fig. 171. *H. aspersa* (d'estate). Cellula con massa di secreto. 500 d.

Fig. 172. *H. aspersa* (alla fine dell' inverno). Massa di secreto con gocce. 500 d.

Ostrea edulis.

Fig. 173. Gocce di secreto delle cellule epatiche, isolate nel campo del microscopio. 1000 d.

Fig. 174. Idem, ma invece tolte da un ammasso di gocce assai cospicuo. 1000 d.

Octopus macropus, Eledone moschata, Sepia officinalis.

Fig. 175. *Octopus macropus*. Un infusorio contenuto nel canale digerente. 1000 d.

Fig. 176. Lo stesso animale. Un infusorio contenuto nel canale digerente. La parte superiore nella figura vibra come un insieme di ciglia. 1000 d.

Fig. 177. Lo stesso animale. Un infusorio simile al precedente, dopo che ha cessato i movimenti e si è un po' contratto. 1000 d.

Fig. 178, 179. *Sepia officinalis*. Cellule epatiche con poche gocce di secreto (contratte). 500 d.

Fig. 180. *Octopus macropus*. Cellula epatica (contratta) con gocce di secreto che tendono ad ammassarsi. 500 d.

Fig. 181. *Sepia officinalis*. Cellula epatica (contratta) con una sola goccia di secreto. È visibile il nucleo. 500 d.

Fig. 182. *Eledone moschata*. Cellula epatica (contratta) con una sola goccia di secreto nettamente formata, e pigmentazione piuttosto diffusa. 500 d.

Fig. 183. *Eledone moschata*. Cellule come la precedente, con qualche macchia rossa. 500 d.

Fig. 184. *Octopus macropus*. Cellula con gocce di secreto riunite in una massa. Appena cominciata la contrazione. 500 d.

Fig. 185. Lo stesso animale. Goccia di secreto da una massa di secreto di una cellule simile alla precedente. 1000 d.

Fig. 186. *Sepia officinalis*. Cellula con massa di secreto contenente cristalli. Contratta. Il nucleo in basso. 500 d.

Fig. 187. *Octopus macropus*. Nelle feci del digiuno, tratte dall' intestino. Gocce di secreto con frammento di cellula, la quale ha emesso degli spunzoni. 500 d.

Fig. 188. Lo stesso animale. Nel fegato disfatto, pezzo di cellula contratta, con qualche sferula e qualche goccia. 500 d.

Fig. 189. *Sepia officinalis*. Animale in piena digestione. Ammasso di gocce di secreto, contornate da una zona incolore, nell' intestino (uguali nell' ingluvie, nello stomaco, nel fegato disfatto). 500 d.

Fig. 190. *Octopus macropus*. Cellula contratta con goccia di secreto intensamente rossa (piena estate). 500 d.

Fig. 191. *Octopus macropus*. Massa di secreto con zona esterna più chiara (piena estate). 500 d.

Fig. 192. *Octopus macropus*. Cellula con massa di secreto rossa, contenente qualche cristallo (piena estate). In basso il nucleo.

Fig. 193. *Sepia officinalis*. Dal fegato. Sfera incolore con qualche goccia di secreto rosso. 500 d.

Fig. 194. *Octopus macropus*. Cellula contratta, con pigmentazione diffusa e punti rossi. 500 d.

- Fig. 195. *Eledone moschata*. Cellula contratta, con goccioline giallognole, aventi ciascuna un punto rosso. 500 d.
- Fig. 196. *Eledone moschata*. Cellula contratta con soli granuli rossi. 500 d.
- Fig. 197. *Octopus macropus*. Cellula con granuli rossi, in forma naturale. 500 d.
- Fig. 198. La stessa, dopo un certo tempo di osservazione. 500 d.
- Fig. 199. *Sepia officinalis*. Sfera con granuli rossi, nel fegato disfatto. 500 d.
- Fig. 200. *Sepia officinalis*. Cellula sferulosa, o frammento, contratta, a struttura non tipica. 500 d.
- Fig. 201, 202. *Eledone moschata*. Idem, 500 d.
- Fig. 203. *Octopus macropus*. Cellula sferulosa a struttura tipica. 500 d.
- Fig. 204. *Eledone moschata*. Cellula sferulosa tipica, pigmentata. 500 d.
- Fig. 205. La stessa a 100 d.
- Fig. 206—209. *Sepia officinalis*. Animale ucciso dopo il pasto. Assorbimento del grasso nello stomaco e nel cieco. Sezioni — Ac. osmio-cromo-acetico. Fucsina. (Solo le gocce nere sono tinte dall' ac. osmico, il resto, anche se segnato in nero, è tinto dalla fucsina.)
- Fig. 206. Stomaco. Porzione di epitelio senza grasso. 500 d.
- Fig. 207. Stomaco. Porzione di epitelio con qualche goccia di grasso. 500 d.
- Fig. 208. Stomaco. Porzione di epitelio pieno zeppo di gocce di grasso. 500 d.
- Fig. 209. Cieco. Epitelio di un sepimento. 1000 d.

Indice.

	pag.
I. Introduzione	281
II. Concetto della ricerca e tecnica	285
III. <i>Aplysia depilans</i> e limacina	296
1. Anatomia del canale digerente	296
2. Istologia del canale digerente e del fegato sommariamente . . .	301
3. Meccanica della digestione	307
4. La digestione degli alimenti studiata al microscopio	319
5. Fegato. — Cellule assorbenti clorofilliche	330
6. Fegato (segue). — Cellule secernenti a grosse gocce	345
7. Fegato (segue). — Cellule secernenti a piccole gocce	356
8. Fegato (segue). — Cellule sferulose	358
9. Le cellule epatiche secondo MAZZARELLI.	362
IV. <i>Pleurobranchaea Meckelii</i>	365
V. <i>Helix aspersa</i> e <i>pomatia</i>	373
VI. Cefalopodi	377
VII. <i>Ostrea edulis</i>	382
VIII. Appendice. — Osservazioni spettroscopiche	385
IX. Sommario dei risultati	387
X. Nota aggiuntiva	393
Bibliografia	397
Spiegazione delle figure	399